

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTADE DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE SAÚDE PÚBLICA, RADIOLOXÍA E PSIQUIATRÍA



**Polimorfismos genéticos del *CYP2C9* y hemorragias gastrointestinales
asociadas al consumo de antiinflamatorios no esteroideos:
un estudio multicéntrico de casos y controles.**

Memoria que presenta para optar al grado de doctora,

Ana Estany Gestal

En Santiago de Compostela, mayo de 2012

El Doctor *D. Adolfo Figueiras Guzmán*, Catedrático de Salud Pública de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela y *D^a. Paula Sánchez Diz*, Doctora en Biología por la Universidad de Santiago de Compostela,

CERTIFICAN:

Que la presente memoria que lleva por título

“Influencia de los polimorfismos genéticos del *CYP2C9* en hemorragias gastrointestinales asociadas al consumo de antiinflamatorios no esteroideos: un estudio multicéntrico de casos y controles”

de la licenciada en Farmacia por la Universidad de Santiago de Compostela *Ana Estany Gestal*, ha sido realizada bajo nuestra dirección, considerándola en condiciones para optar al Grado de Doctor y autorizándola para su presentación ante el tribunal pertinente.

Y para que así conste y produzca los efectos oportunos, firmamos la presente en Santiago de Compostela a 3 de mayo de 2012.

Fdo.: Prof. Dr. Adolfo Figueiras Guzmán

Fdo.: Dra. Paula Sánchez Diz

Agradecimientos

Quiero expresar mi gratitud a las personas han hecho posible y me han ayudado a llevar a cabo este trabajo.

En primer lugar agradezco a mi director, el Dr. Adolfo Figueiras, su gran calidad humana y científica; el haberme brindado la posibilidad de formar parte de su equipo; su orientación, motivación y su apoyo durante el desarrollo de este y otros trabajos.

A mi codirectora, la Dra. Paula Sánchez, le agradezco las correcciones, comentarios y sugerencias en este trabajo. Le agradezco “sobretudo” su paciencia genética y me quedo con su amistad. Gracias bossanova.

A ambos les agradezco sinceramente su confianza y sus consejos.

A mis compañeros de departamento y de “pasillo”, especialmente a Ángel y a María. Al laboratorio de Medicina Legal y al de Parasitología de la USC. Al resto de los centros que también forman parte de este proyecto: el Hospital de Valladolid, la Azienda Ospidaliara de Verona, el Hospital de Galdakao y el de Vall d’Hebrón, porque sin su colaboración, este trabajo no habría sido posible.

A mis amigos, Lucía, Ana, Manu y Roi, por todo lo vivido. A Jorge, Carlos, Silvia y a todos mis coruños. A mis ferrolanos. A Ángela y a Feli, mis compis de sofá. A María, que es mi medio limón, a María José, a Alba y a Cris, porque siempre están aunque no estén. A Alberto, por creer en mi más que yo misma. Gracias por ayudarme a desconectar, por escucharme, por divertirme y por soportar mis “cosas estadísticas”.

A mi familia, y por encima de todo y de todos, a mis padres, que se han ocupado y esforzado en mi formación, siempre a mi lado, me han ayudado y enseñado a superar todos los inconvenientes. A mi padre por su comprensión y su templeanza. A mi madre por su entrega. Porque lo que soy es gracias a ellos. A mi hermana Laura, que es lo más grande que tengo.

'Cheshire Puss', Alice began, rather timidly, 'Would you tell me, please, which way I ought to go from here?' (...) 'That depends, a good deal, on where you want to get to', answered the Cat. 'I don't much care where' said Alice. 'Then it doesn't matter which way you go', said the Cat.

Alice's adventures in Wonderland

(Lewis Carroll)

Presentación

La variabilidad interindividual en la respuesta farmacológica, tanto desde el punto de vista de la eficacia como de la seguridad, se relaciona con la presencia de polimorfismos en los genes que codifican las enzimas que intervienen en la ruta metabólica de los fármacos. Esta tesis pretende profundizar en el estudio de las variantes polimórficas *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* y en su influencia en la variabilidad interindividual de las reacciones adversas gastrointestinales de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Esta investigación formó parte del proyecto titulado “Polimorfismos genéticos y respuesta idiosincrásica a fármacos: un estudio multicéntrico sobre riesgo de hemorragias gastrointestinales” que ha sido financiado por el Ministerio de Sanidad y Consumo, a través del Fondo de Investigaciones Sanitarias (02/1512, 02/1364, 02/0661, 02/1572). La muestra se reclutó en el área de influencia de cinco hospitales de primer nivel localizados en el suroeste de Europa: el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, el Hospital Universitario de Valladolid, el Hospital Universitario de

Galdakao-Usansolo, el Hospital Universitario de Vall d'Hebron en Barcelona, y el Hospital Universitario de Verona, en el norte de Italia. La población de influencia combinada de estos centros asciende a 1.570.687 habitantes. Se ha considerado este ámbito geográfico porque las variantes genéticas que se pretendían estudiar, tienen una prevalencia elevada en población de origen europeo.

Este trabajo está estructurado en siete capítulos. En el primero, la introducción, se expone la evolución histórica de la utilización de los AINE desde el punto de vista de la farmacoepidemiología y la farmacogenética; en el segundo, se presentan la justificación y los objetivos, principales y específicos, que se han tratado de alcanzar. Los tres capítulos siguientes se corresponden con tres artículos que siguen el proceso natural de la investigación que se llevó a cabo. El primero consiste en una revisión sistemática y crítica de la metodología empleada en los estudios publicados sobre la influencia de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en el incremento del riesgo de HGI en consumidores de AINE. En el segundo artículo, que lleva por título “Prevalencia de los polimorfismos del *CYP2C9* en el sur de Europa”, se analiza la frecuencia y la distribución de las variantes codificantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en la población del suroeste de Europa y se compara con las frecuencias calculadas en estudios previos en otras poblaciones de origen europeo. En el tercero, se presentan los resultados de un estudio multicéntrico de casos y controles incidentes, donde se determinó el riesgo de sufrir HGI asociado al consumo de AINE y se analizó la variación de este riesgo en presencia de las variantes codificantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*, teniendo en cuenta, a su vez, la dosis de AINE consumida por el paciente.

El penúltimo capítulo consiste en una discusión, donde se reflexiona acerca de los hallazgos más relevantes de esta investigación y, en el último, se exponen las conclusiones de este trabajo.

Índice

| | |
|---|---|
| I. Introducción: Los AINE desde el punto de vista de la farmacoepidemiología y la farmacogenética..... | 1 |
| 1. Antigüedad..... | 1 |
| 2. Edad Media y Edad Moderna..... | 2 |
| 3. Siglo XIX..... | 2 |
| 3.1 De la corteza de sauce al AAS..... | 3 |
| 4. Siglo XX..... | 4 |
| 4.1 Años 70-80..... | 5 |
| 4.1.1 Antiinflamatorios no esteroideos..... | 5 |
| 4.1.2 Desarrollo de la farmacogenética..... | 5 |
| 4.2 Década de los 90..... | 6 |
| 4.2.1 Importancia de las enzimas metabolizadoras de Fase I..... | 6 |
| 4.2.2 Farmacoepidemiología de los AINE..... | 6 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 4.2.3 | Las isoformas de la COX..... | 8 |
| 5. | Siglo XXI..... | 10 |
| 5.1 | Avances en farmacogenética..... | 10 |
| 5.2 | Problemas con los coxibs..... | 11 |
| 5.3 | Clasificación del grupo terapéutico de los AINE..... | 13 |
| 5.4 | Metabolismo de los AINE..... | 13 |
| 5.5 | Enzima CYP2C9..... | 16 |
| 5.5.1 | Farmacogenética de la enzima CYP2C9..... | 17 |
| II. | Justificación y objetivos..... | 19 |
| III. | Influencia de las variantes genéticas del <i>CYP2C9</i> en las hemorragias gastrointestinales asociadas al consumo de antiinflamatorios no esteroideos..... | 23 |
| IV. | Prevalencia de los polimorfismos del <i>CYP2C9</i> en el sur de Europa..... | 35 |
| V. | Variantes del <i>CYP2C9</i> y riesgo de HGI asociado al consumo de AINE: un estudio de casos y controles..... | 45 |
| VI. | Discusión..... | 71 |
| VII. | Conclusiones..... | 77 |
| | Bibliografía..... | 79 |
| | Anexos..... | 91 |
| | Anexo I. Comités éticos..... | 93 |
| | Anexo II. Consentimientos informados..... | 107 |
| | Anexo III. Cuestionario..... | 123 |
| | Resumen/Summary..... | 143 |



Corteza de *Salix alba*.

I. Introducción

Los AINE desde el punto de vista de la
farmacoepidemiología y la farmacogenética

1 Antigüedad

La enfermedad es tan antigua como el hombre y la búsqueda de sustancias capaces de calmar el dolor ha sido una constante a lo largo de su existencia. Es imposible determinar en qué momento el hombre encuentra el origen de la medicación para la cura de enfermedades y el alivio del dolor, aunque se tiene constancia de que, de una forma rudimentaria, han existido sustancias medicamentosas desde la prehistoria. No se conoce con exactitud en qué momento de la historia el hombre descubrió las propiedades terapéuticas de la corteza del sauce blanco (*Salix alba*), pero registros arqueológicos confirman que, desde tiempos inmemoriales, numerosas culturas la emplearon para el tratamiento del dolor y la fiebre.

Existen tallas en piedra que datan del período sumerio donde se confirma que los asirios la utilizaban para tratar dolores músculo-esqueléticos (Jones 2001). Los egipcios también empleaban el sauce para aliviar la inflamación y el dolor en heridas y articulaciones. En el siglo V a.C., durante la época de la Grecia clásica, Hipócrates escribió acerca de una sustancia amarga extraída del sauce blanco que podía calmar los dolores y aliviar la fiebre, y recomendaba mascar hojas de sauce para mitigar el dolor (Bellis 1997). En el siglo I, Galeno, uno de los médicos más prestigiosos del imperio romano, también describió y utilizó los efectos medicinales del sauce blanco.

2 Edad Media y Edad Moderna

A principios de la Edad Media la corteza de sauce dejó de utilizarse en beneficio de una nueva sustancia, el opio, que se convirtió en la sustancia analgésica más empleada de la época. Las propiedades del *Salix alba* cayeron en el olvido hasta mediados del siglo XVIII, cuando el reverendo Edmund Stone presentó, en el año 1763, un informe en la Real Sociedad Británica de Medicina que destacaba el efecto antipirético de la corteza de esta planta (Stone 1763). En él se explicaba cómo la administración de corteza de sauce en forma de infusión, disminuía la fiebre intermitente a 50 pacientes aquejados de procesos febriles. Stone supuso que, tal vez, la corteza de sauce poseía propiedades curativas, porque el *Salix alba* crece en áreas húmedas, donde ese tipo de fiebre era muy abundante. Este informe se considera la primera descripción *cuasi*-científica de la corteza de sauce como sustancia antipirética y antiinflamatoria.

3 Siglo XIX

En aquel momento, el descubrimiento de agentes medicinales estaba catalogado como un arte empírico, donde se entremezclaban folclore popular y preparados a base de sustancias vegetales y minerales, pero a partir de la mitad de este siglo, las investigaciones científicas comenzaron a abrirse paso, dejando atrás a los remedios naturales.

3.1 De la corteza de sauce al ácido acetilsalicílico

Las investigaciones sobre cuál era la sustancia del *Salix alba* que mitigaba el dolor y la fiebre, generaron cierta rivalidad entre científicos franceses y alemanes. En 1828, el farmacéutico alemán Johann A. Buchner logró aislar por primera vez la salicilina de la corteza de sauce, una sustancia amarillenta en forma de cristales, de sabor muy amargo e irritante para la mucosa gástrica (Bayer División 2011). Al año siguiente, el farmacéutico francés Henri Leroux, descubrió un procedimiento de extracción con el que obtuvo 30 gramos de salicilina a partir de 1,5 kilogramos de corteza de sauce (Nicolau y cols 2008). En 1853, el francés Charles Gerhardt, partiendo de sustancias derivadas de la salicilina, realizó el primer intento de acetilación del ácido salicílico, buscando una alternativa que disminuyese la gastrolesividad de la salicilina. Sin embargo, la solución que obtuvo presentaba demasiadas impurezas y efectos adversos, y el método resultaba muy complicado. Sus experimentos fueron relegados al olvido aun habiendo sido recogidos en la literatura científica de su tiempo (Majano-Sánchez 2007).

El amplio uso terapéutico de la corteza de sauce generó una necesidad en la comunidad científica de la época de encontrar la fórmula química que permitiera sintetizar la salicilina, para prevenir la escasez de esta sustancia. En 1869, Adolph Wilhelm Kolbe consiguió sintetizar el ácido salicílico, y demostró que, además de sus propiedades antipiréticas, también era antiinflamatorio y analgésico. Sin embargo, la molécula resultó ser demasiado corrosiva para la mucosa gástrica (Nicolau y cols 2008).

En 1893, el químico alemán Félix Hoffmann retomó los estudios realizados por Gerhardt, con la intención de sintetizar un producto más puro, químicamente más estable y que no fuera tan irritante para el estómago como los anteriores derivados de la salicilina. Lo más relevante del proceso de síntesis consistió en añadir un grupo acetilo al ácido salicílico. Como resultado obtuvo el *ácido acetilsalicílico* (AAS), su aspecto era de polvo blanco. Bayer, la compañía para la que trabajaba Hoffmann,



Primera presentación de la Aspirina®

registró la molécula en el año 1900 y la comercializó en comprimidos bajo el nombre de *Aspirin*® (Hoffman 1900).

La aspirina es el primer fármaco de un grupo terapéutico denominado *antiinflamatorios no esteroideos* (AINE). Este grupo de fármacos, que se desarrollará a lo largo del siglo XX, en la actualidad se considera el tratamiento de elección para remitir procesos inflamatorios y dolorosos de intensidad leve o moderada.

4 Siglo XX

A finales de los años 40, experimentos clave determinaron que el material genético era el ácido nucleico (DNA y RNA) y no las proteínas. Pocos años después, Watson y Crick revolucionaron la biología con la determinación de la estructura de la doble hélice del ADN (Watson y Crick 1953), lo que sugirió el mecanismo de su duplicación.

Hasta ese momento, los pacientes eran considerados un conjunto homogéneo y se asumía que los tratamientos eficaces y bien tolerados en un sujeto, lo serían también en el resto. Las diferencias interindividuales observadas en la respuesta farmacológica solían denominarse *respuesta idiosincrásica*. Sin embargo, en 1957, se comprobó que ciertas reacciones adversas a medicamentos (RAM) podrían estar relacionadas con variaciones en la actividad de las enzimas metabolizadoras (Motulsky 1957). Siguiendo esta línea, en 1959, Friederich Vogel utiliza por primera vez el término farmacogenética, que se define como la disciplina que se ocupa de estudiar las diferentes respuestas de los individuos frente a los fármacos, basándose en los patrones de variabilidad genética de cada paciente.

En ese mismo año, se sintetiza por primera vez un fármaco con unas propiedades terapéuticas similares a las de la aspirina. Fue llamado *ibuprofeno* y se comercializó bajo la marca *Brufen*®. A pesar de que en un ensayo clínico realizado con ibuprofeno en 18 pacientes con artritis reumatoide, no se obtuvieron mejores resultados que frente a placebo (Jasani y cols. 1968), este fármaco resultó ser el primero de una larga serie de fármacos antiinflamatorios que no contienen salicilato.

4.1 Años 70-80

4.1.1 *Antiinflamatorios no esteroideos*

Durante estas dos décadas, se siguieron sintetizando y comercializando medicamentos con propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas similares a las de la aspirina y a las del ibuprofeno, como la *indometacina* o el *naproxeno*. A pesar de que eran fármacos con estructuras químicas muy diferentes, se acuñó el término de *antiinflamatorios no esteroideos* para formar un nuevo grupo terapéutico que los incluyera. Esta agrupación se llevó a cabo, principalmente, por dos motivos: 1) por el hecho de ser fármacos con propiedades terapéuticas comunes, que se empleaban como antiinflamatorios, analgésicos y/o antipiréticos y 2) para distinguirlos de otros antiinflamatorios de naturaleza corticoide porque, a diferencia de los éstos, los AINE no producían depresión respiratoria, ni inducían tolerancia o dependencia física. Los AINE se convirtieron en un grupo terapéutico muy amplio y su uso se generalizó en la práctica clínica de tal manera que, elegir un AINE adecuado, llegó a plantear problemas en las decisiones terapéuticas. Fue así como surgió la necesidad de conocer el mecanismo farmacocinético, farmacodinámico y de respuesta farmacológica de cada uno de ellos.

Rober Vane, un prestigioso farmacólogo británico, inició una etapa fundamental en el conocimiento de los AINE al demostrar que el mecanismo de acción de los AINE, consiste en la inhibición de la enzima ciclooxygenasa (COX), y como consecuencia, se inhibe la síntesis de las prostaglandinas (Vane 1971).

Desde que se sintetizó por primera vez el ácido acetilsalicílico hasta que se descubrió su mecanismo de acción, transcurrieron 74 años.

4.1.2 *Desarrollo de la farmacogenética*

A finales de los 80, se demostró que las vidas medias plasmáticas de muchos fármacos eran menos divergentes entre parejas de gemelos monocigotos que entre parejas de gemelos provenientes de cigotos diferentes (Vesell 1989). Bajo la presunción de que esta diferencia podría deberse a la presencia de polimorfismosⁱ

ⁱCuando se comparan los cromosomas de dos sujetos, como media, se espera encontrar una diferencia en una de cada 1250 pares de bases (bp). Estas variaciones genéticas se consideran polimorfismos cuando la variante menos frecuente está presente, como mínimo, en el 1% de la población. Se dividen en dos tipos principales: a) *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs), son

en los genes que codifican las enzimas implicadas en los procesos farmacocinéticos de absorción, distribución, metabolismo o excreción, se empezaron a explorar las bases genéticas de la acción farmacológica y tóxica de los medicamentos.

4.2 Década de los 90

4.2.1 Importancia de las enzimas metabolizadoras de Fase I

El metabolismo de los fármacos tiene lugar en dos fases: La fase I sucede en primer lugar y consiste en la oxidación del medicamento mediante procesos de reducción y de hidrólisis. Está mediada por un grupo de enzimas hepáticas que pertenecen al citocromo P-450 y, por lo general, tiene como resultado la inactivación del fármaco. La fase II tiene como objetivo favorecer la eliminación del medicamento inactivado. Se producen reacciones de conjugación que consisten, principalmente, en la adición de un grupo glucurónido a la molécula. Estas reacciones están mediadas por una batería de enzimas denominadas UDP-glucuroniltransferasas (UGT).

El citocromo P-450 (o CYP-450) es un conjunto de enzimas hepáticas agrupadas en 18 familias y 44 subfamilias, de las que solamente las familias CYP1, CYP2 y CYP3 parecen estar implicadas en el metabolismo farmacológico. Alrededor del 86% de los medicamentos más prescritos en la práctica clínica, son metabolizados de forma mayoritaria por las siguientes enzimas: CYP3A4 y CYP3A5 (37%), CYP2C9 (17%), CYP2D6 (15%), CYP2C19 (10%), CYP1A2 (9%), CYP2C8 (6%) y CYP2B6 (4%) (Ingelman-Sundberg 2005).

4.2.2 Farmacoepidemiología de los AINE

Es importante resaltar que todos los AINE tienen dosis techo, dosis por encima de la cual no se incrementa el efecto terapéutico. Sin embargo, las reacciones adversas asociadas al consumo de AINE, sobretudo las gastrointestinales, son de naturaleza dosis-dependiente (García-Rodríguez y cols. 1998), de manera que el riesgo de padecer una reacción adversa aumenta a medida que se incrementa la concentración plasmática de AINE.

variantes en un solo nucleótido (incluyen las inserciones de una sola base) y b) variantes estructurales, que incluyen inserciones-delecciones (indels), sustituciones en bloque, inversiones en la secuencia de ADN y diferencias en el número de copias (*CopyNumberVariants* -CNVs).

En los años 90 más de 30 millones de personas en todo el mundo consumían AINE a diario (Sing y cols. 2000). Durante esta década, se empezaron a publicar trabajos que mostraban la elevada morbilidad y el alto número de ingresos hospitalarios que se producían como consecuencia de la gastrolesividad de estos fármacos, hasta el punto de que empezaron a ser considerados uno de los principales factores de riesgo de hemorragia gastrointestinal (Wolf y cols. 1999). En un metanálisis realizado por Hernandez-Díaz y cols. en 1999, donde incluyeron todos los estudios de cohortes y de casos y controles realizados en los años 90, se obtuvo que el riesgo relativo (RR)ⁱⁱ de padecer úlceras gastrointestinales asociadas al consumo de AINE era de 3,8 (3,6-4,1).

En 1998, se llevó a cabo un estudio multicéntrico de casos y controles, en diez hospitales españoles y uno italiano, donde se atribuyó un riesgo de HGI para cada AINE. Se determinó que el ketorolaco es el que posee el riesgo más elevado de causar daño gastrointestinal [ORⁱⁱⁱ= 24.7 (8.0-77.0)] seguido del piroxicam [(OR= 15.5 (10.0-24.2)], el naproxeno, la indometacina y el ketoprofeno (estos tres últimos tienen un OR significativo de 10) (Laporte y cols. 2004). En otro estudio realizado en España ese mismo año, se determinó que el 65% de las complicaciones gastrointestinales se asocian al consumo de aspirina o de algún tipo de AINE, y que el 60% de los pacientes que requieren cirugía por complicaciones gastrointestinales graves, están tomando algún tipo de AINE (Vargas y cols. 2001).

El impacto de estos datos no debe minusvalorarse, pues en otro trabajo se estimó que también en 1998 en nuestro país, estos fármacos fueron responsables de más de 2.000 muertes y 25.000 hemorragias gastrointestinales, lo que supuso un coste directo que alcanzó los 300 millones de euros (Lanas y cols. 2000). A pesar de la elevada frecuencia de sus reacciones adversas, al año siguiente, los AINE fueron unos de los medicamentos más prescritos por los facultativos españoles y los más

ⁱⁱEl riesgo relativo (RR) es la medida de riesgo que indica cuántas más veces se tiende a desarrollar el evento (hemorragias gastrointestinales) en el grupo de sujetos expuestos al factor de exposición o de riesgo (consumo de AINE) en relación con el grupo no expuesto. Se emplea sobretodo en estudios experimentales, en estudios de cohortes y en algunos metaanálisis.

ⁱⁱⁱEl *odds ratio* (OR) indica el riesgo de ocurrencia de un evento. Se emplea principalmente en estudios de casos y controles. El valor del riesgo se obtiene al dividir la probabilidad de exposición observada en los casos entre la del grupo control. Su interpretación es similar a la del RR, indica las veces que un caso puede sufrir un evento, respecto a un control.

empleados en automedicación por los pacientes, con un consumo medio de 17 comprimidos de aspirina por habitante (González-Pérez y cols. 2002).

4.2.3 Las isoformas de la COX

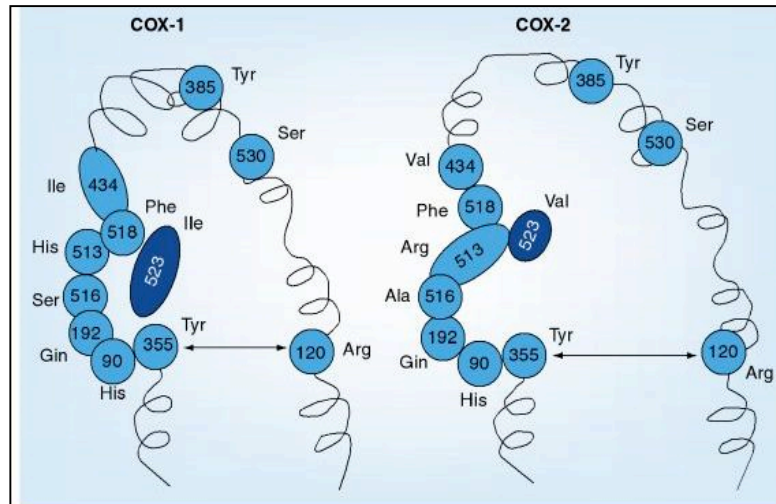
Durante casi 20 años, el efecto terapéutico de los AINE y la aparición de sus RAM, sobre todo las gastrointestinales, se explicaban a través del mecanismo de inhibición de la COX y de las prostaglandinas. Sin embargo, a principios de esta década se publicaron los primeros datos que demostraban que la ciclooxigenasa tenía dos isoformas (O'Banion y cols. 2001). Estas dos isoenzimas^{iv} están ligadas a genes presentes en distintos cromosomas, por lo que sus patrones de síntesis son diferentes y, aunque estructuralmente son muy similares, sus papeles fisiológicos son muy distintos (Figuras 1 y 2).

La isoforma COX-1 se expresa en la mayoría de los tejidos (especialmente en el riñón y en el tracto gastrointestinal), y su actividad está relacionada con la participación de las prostaglandinas y los tromboxanos en el control de las funciones fisiológicas que favorecen el proceso de la homeostasis corporal, como la protección del epitelio gástrico, el funcionamiento renal, la agregación plaquetaria o el balance electrolítico. Su inhibición por parte de los AINE, se relaciona con la aparición de los efectos no deseados, sobretodo de los gastrointestinales, ya que al inhibirse la síntesis plaquetaria, se inhibe la protección que ejercen las prostaglandinas sobre la mucosa gástrica.

La COX-2, en cambio, es inducida por una serie de mediadores químicos en las zonas del organismo que sufren procesos inflamatorios, con el fin de mantener los mecanismos inflamatorios y de amplificar las señales dolorosas. Aunque la COX-2 también es constitutiva en algunos tejidos, su expresión se incrementa hasta 20 veces en presencia de procesos inflamatorios, mientras que la COX-1 o no lo hace, o lo hace en un grado mucho menor. Como la inducción de la COX-2 se produce casi exclusivamente en procesos inflamatorios, la inhibición de esta isoenzima por parte de los AINE, se relaciona directamente con el efecto terapéutico de estos fármacos.

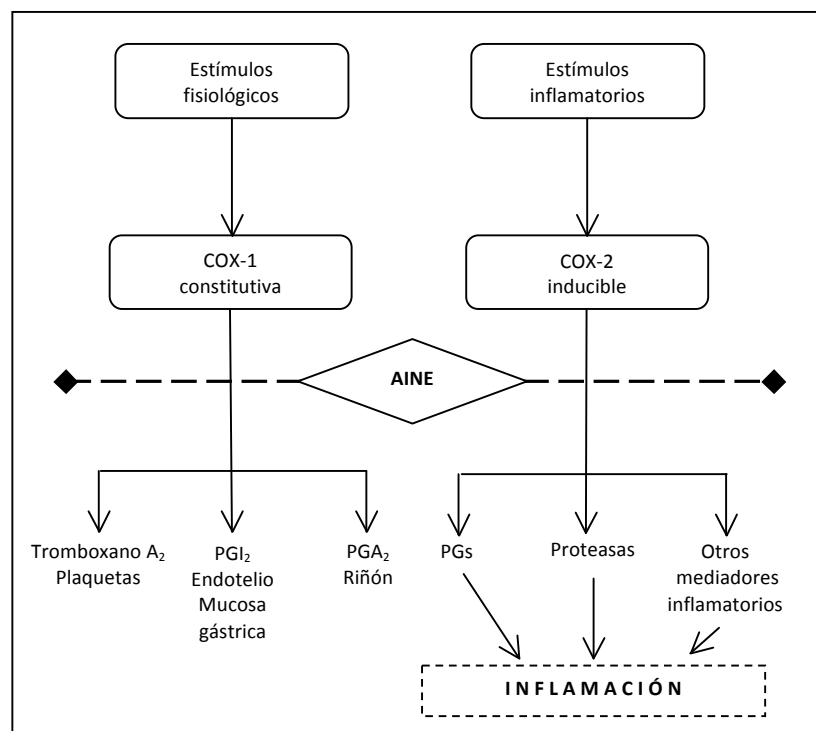
^{iv}Recientemente se ha descrito una tercera isoforma, la COX-3, que también es inhibida por los AINE, aunque parece que más específicamente por el paracetamol. La inhibición de la COX-3 podría explicar la actividad antipirética de este fármaco, pero es necesario realizar nuevos estudios que aporten más información al respecto (Chandrasekharany cols. 2002).

Figura 1. Estructura de las isoenzimas COX-1 y COX-2.



Fuente: *Expert Rev Clin Pharmacol* 2010

Figura 2. Diferencias funcionales entre la COX-1 y la COX-2.



Fuente: *Nature* 2004

Los AINE disponibles hasta este momento, inhibían de forma no selectiva la actividad enzimática de ambas isoformas, aunque no todos lo hacían en la misma proporción. Sin embargo, a partir del descubrimiento de las dos isoformas de la COX, se inició una carrera en la industria farmacéutica para encontrar un fármaco antiinflamatorio que bloquease de forma específica la COX-2, ya que el principal mecanismo por el que los AINE convencionales producen daño gastrointestinal es la inhibición de la COX-1, y el hecho de inhibir solamente la COX-2 mantendría las propiedades terapéuticas. A este nuevo grupo de AINE COX-2 selectivos se le conoce como *coxibs*. El primero de ellos, el rofecoxib, se comercializó en 1999 con el sobrenombre de superaspirina.

5 Siglo XXI

5.1 Avances en farmacogenética

A principios de siglo, se asistió a un acontecimiento científico de gran importancia: se había completado el estudio del genoma humano, con sus 3.200 millones de nucleótidos distribuidos en los 23 pares de cromosomas, que constituyen la dotación genética humana. Una de las múltiples aplicaciones de este hallazgo, es el gran avance en el campo de la asociación entre los fármacos y el individuo.

Actualmente, la variabilidad interindividual en la respuesta farmacológica es uno de los principales problemas que afectan a la práctica clínica y al desarrollo de nuevos medicamentos. Los factores determinantes de esta variabilidad son numerosos y, en ocasiones, difíciles de determinar. Los más relevantes son la patogenia y la severidad de la enfermedad; la edad, el sexo y el estado nutricional del paciente, el hábito tabáquico, el consumo de alcohol, la función hepática y renal, interacciones farmacológicas, enfermedades concomitantes y dotación genética del individuo. Se ha estimado que el factor genético podría explicar entre un 20 y 95% de la variabilidad en la respuesta a medicamentos (Evans y cols. 2003).

El principal objetivo de la farmacogenética consiste en el estudio de las variantes genéticas que determinan que la respuesta farmacológica a un medicamento, tanto desde el punto de vista de la efectividad como de la aparición de RAM, sea diferente en función del individuo que lo consuma. La identificación de estas variantes podría determinar a los pacientes que deberían evitar un

medicamento específico o a los que deberían modificar la dosis del que consumen (Ali y cols. 2009). De esta forma, surge la idea de la *medicina personalizada* como la aplicación clínica de la farmacogenética y con la finalidad de optimizar las terapias farmacológicas en la práctica clínica de cada paciente, teniendo en cuenta sus características genéticas. En realidad, no se trata de tratamientos preventivos y/o curativos diseñados a la medida de cada individuo, sino de tratamientos un poco más amplios que se aplican a grupos de personas con características genéticas comunes.

Aunque los polimorfismos genéticos pueden afectar a cualquiera de las fases de la vida biológica del fármaco, inicialmente, los estudios farmacogenéticos se centraron en identificar polimorfismos en los genes que codifican las enzimas responsables de la metabolización, sobre todo las implicadas en la Fase I ya que por un lado, es el proceso en el que tiene lugar la inactivación del fármaco, y por otro, los genes que codifican las enzimas del citocromo P-450, son altamente polimórficos. Así, se publicaron los primeros artículos que establecen el incremento de riesgo de aparición de RAM o de fracaso terapéutico asociado a la interacción entre polimorfismos presentes en enzimas metabolizadoras y algunos de los medicamentos más empleados en la práctica clínica: polimorfismos en CYP2C9 y warfarina (Higashi y cols. 2002) ó fenitoína (Kidds y cols. 2001), CYP2C19 y clopidogrel (Steinbul y cols. 2010) ó inhibidores de la bomba de protones (Klotz y cols. 2010), y CYP2D6 y tamoxifeno (Fleeman y cols. 2011).

Aunque inicialmente los estudios farmacogenéticos se centraron en el análisis de los polimorfismos involucrados en la metabolización, rápidamente la búsqueda de marcadores se extendió a todos los procesos biológicos que se dan a partir del momento en que un fármaco y un organismo entran en contacto (Peters y cols 2008).

5.2 Problemas con los coxibs

Aunque el rofecoxib (Vioxx®) salió al mercado en mayo de 1999, hasta año y medio después no se publicó su ensayo clínico pivotal^v, el VIGOR (Bombardier y

^vUn estudio pivotal es el ensayo clínico que se lleva a cabo en la fase III de un ensayo experimental con un medicamento y tiene como objetivo evaluar la seguridad y la eficacia del

cols. 2000). En este ensayo se comparaba un grupo de pacientes tratado con rofecoxib con otro tratado con naproxeno y, a pesar de que los datos que presentaban sobre los efectos adversos cardiovasculares estaban incompletos, se observó que el grupo tratado con rofecoxib tenía más del doble de riesgo de infarto que el tratado con naproxeno. No obstante, los autores le restaron importancia basándose en que era un hallazgo *no planificado* y que estas diferencias podían deberse a un potencial efecto cardioprotector del naproxeno.

Mukherjee y cols., en 2001, reanalizaron los datos del VIGOR, y determinaron que el riesgo infarto era 2,38 veces superior en el grupo de individuos tratados con rofecoxib que en el grupo tratado con naproxeno. Además, destacaban la necesidad de que la compañía farmacéutica realizase más ensayos sobre la seguridad del rofecoxib. En 2002, Boers publicó otro estudio donde concluye que en el ensayo del VIGOR se había introducido deliberadamente un sesgo que infraestimaba el riesgo de sufrir un efecto adverso cardiovascular. En ese momento, la *Food and Drug Administration* (FDA, <http://www.fda.gov/>), a pesar de tener conocimiento de estos datos, no promovió la realización de ningún ensayo, aunque modificó el etiquetado del rofecoxib, que pasó a advertir de los posibles riesgos cardiovasculares. La compañía del Vioxx®, por su parte, reaccionó ante estos hechos publicando una serie de estudios, cuya revisión por pares fue realizada por propios empleados del laboratorio, y con los que se volvieron a reafirmar en la seguridad cardiovascular del fármaco (Topol 2004). Sin embargo, en septiembre de 2004, la empresa decidió retirar voluntariamente el Vioxx® del mercado al hacerse públicos los resultados del ensayo APPROVe. Este ensayo fue diseñado para evaluar si el rofecoxib podría reducir el riesgo de recurrencias de pólipos adenomatosos, pero lo que se constató fue que el 3,5% de los pacientes tratados con rofecoxib sufrieron infarto agudo de miocardio (IAM) o accidente cerebrovascular (ACV), respecto al grupo control. Con estos datos el ensayo tuvo que detenerse (Baron y cols. 2004).

El rofecoxib estuvo disponible en el mercado de más de 80 países y se determinó que sus efectos adversos cardiovasculares podían haber sido responsables de entre 88.000 y 146.000 casos de enfermedades coronarias y de entre 30.000 y 44.000

fármaco en las condiciones de uso habituales y considerando las alternativas terapéuticas disponibles en la indicación estudiada.

fallecimientos solamente en Estados Unidos (Gram y cols. 2005). Ese mismo año, el valdecoxib (Bextra®) también fue retirado del mercado.

Actualmente, el resto de los coxibs continúan comercializados, pero sus fichas técnicas incluyen las mismas alertas de riesgo de toxicidad gastrointestinal que los AINE convencionales y, además, previenen sobre su cardiotoxicidad.

5.3 Clasificación del grupo terapéutico de los AINE

Actualmente, en nuestro país existen 34 principios activos comercializados de AINE y 368 especialidades farmacéuticas diferentes. Según la clasificación de fármacos ATC^{vi}, los AINE que se administran vía oral se agrupan en el subgrupo M01A, excepto aquellos analgésicos y antipiréticos derivados del ácido salicílico que pertenecen al grupo N02BA. En función de su estructura química, se dividen en ocho grupos. En la Tabla 1, se presentan dichos grupos con sus AINE prototipo.

5.4 Metabolismo de los AINE

La mayoría de los AINE se absorben fácilmente tras su administración por vía oral. A continuación, se unen ávidamente a proteínas plasmáticas y se metabolizan casi por completo en el hígado. Se excretan en el riñón por filtración glomerular o secreción tubular o por vía hepática.

La fase I del metabolismo de la mayoría de los AINE consiste en una reacción oxidativa mediada, de forma mayoritaria, por la enzima CYP2C9, enzima perteneciente al sistema citocromo P450. Las enzimas CYP2C8, CYP1A2 y CYP3A4 contribuyen, en un grado mucho menor, a la metabolización de alguno de ellos. La inactivación de los AINE por acción de la enzima CYP2C9, se considera uno de los principales factores limitantes de su eliminación. En la fase II se producen transformaciones minoritarias llevadas a cabo por las enzimas UGT. En la Tabla 2 se presentan las principales enzimas implicadas en la metabolización de los AINE.

^{vi}El código ATC o Sistema de Clasificación Anatómica, Terapéutica, Química (ATC: acrónimo de *Anatomical, Therapeutic, Chemical classification system*) es un índice de sustancias farmacológicas y medicamentos, organizados por grupos terapéuticos. Este sistema fue instituido por la Organización Mundial de la Salud, y ha sido adoptado en Europa. El código recoge el sistema u órgano sobre el que actúa, el efecto farmacológico, las indicaciones terapéuticas y la estructura química del fármaco.

Tabla 1. Clasificación de los AINE en función de su estructura química.

| Grupos | Fármacos prototipo |
|-------------------------------|---|
| farmacológicos | |
| <i>Salicilatos</i> | Ácido acetilsalicílico (AAS) |
| <i>Derivados enólicos</i> | |
| Pirazolonas | Metamizol |
| Pirazolidindionas | Fenilbutazona |
| Oxicams | Piroxicam, Meloxicam |
| <i>Derivados acéticos:</i> | |
| Indolacético | Indometacina |
| Pirrolacético | Ketorolaco |
| Fenilacético | Aceclofenaco, Diclofenaco |
| Piranoideoacético | Etodolaco |
| Otros | Sulindaco, Tolmetina |
| <i>Derivados propiónicos</i> | Ibuprofeno, Naproxeno, Ketoprofeno |
| <i>Derivados antranílicos</i> | Ácido Mefenámico |
| <i>Derivados nicotínicos</i> | Clonixina |
| <i>Coxibs</i> | Celecoxib, Parecoxib, Lumiracoxib Rofecoxib (retirado en 2004) Valdecoxib (retirado en 2005) |
| Otros | Nimesulida (retirado en 2002) Nabumetona |

Tabla 2. Principales enzimas metabolizadoras de los AINE.

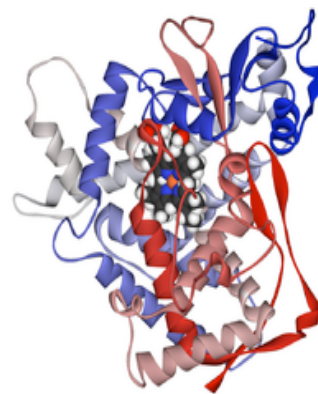
| Fármaco | Relevancia* | | |
|----------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | de las enzimas CYP | Enzima principal | Enzima Secundaria |
| AAS | Secundaria | UGT1A6 | CYP2C9 |
| Aceclofenaco | Parcial | CYP2C9 | Esterasas plasmáticas |
| Celecoxib | Predominante | CYP2C9 | - |
| Diclofenaco | Parcial | CYP2C9 | UGTB7, diversas CYP |
| Dipirona | Secundaria | CYP2C9, CYP2C8 | Diversas CYP |
| Etoricoxib | Secundaria | CYP3A4 | - |
| Flurbiprofeno | Parcial | CYP2C9 | - |
| Ibuprofeno | Predominante | CYP2C9, CYP2C8 | - |
| Indometacina | Parcial | CYP2C9 | Carboxilesterasas |
| Ketoprofeno | Secundaria | Diversas UGT | Diversas CYP |
| Lornoxicam | Predominante | CYP2C9 | - |
| Meloxicam | Parcial | CYP2C9 | CYP3A4 |
| Naproxeno | Secundaria | UGTB7 | CYP2C9, CYP1A2 |
| Parecoxib | Secundaria | Hidroliza a valdecoxib | CYP3A4, CYP2C9 |
| Piroxicam | Predominante | CYP2C9 | - |
| Sulindac | Secundaria | UGT | CYP2C9 |
| Tenoxicam | Parcial | CYP2C9 | - |
| Valdecoxib | Secundaria | CYP3A4 | CYP2C9 |

*Relevancia de las enzimas CYP en el metabolismo de los AINEs:
predominante <90%; parcial 50-90%; secundaria <50%.

(Fuente: *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2010)

5.5 Enzima CYP2C9

La enzima CYP2C9 se expresa fundamentalmente en el hígado y es la más abundante de la familia CYP2C: representa el 20% de todo el contenido CYP del hígado. Interviene en el metabolismo de aproximadamente el 10-20% de los principios activos terapéuticamente más relevantes, algunos de ellos de estrecho margen terapéutico. Los más destacados son los anticoagulantes y los antidiabéticos orales, los antagonistas de la angiotensina, los AINE y otros fármacos como la fluvastatina, la fenitoína o la torasemida (Kirchheiner y cols. 2001).



Enzima CYP2C9

Hasta la fecha se han descrito más de 30 SNPs^{vii} en el gen que codifica esta enzima (<http://www.cypalleles.ki.se/>). Sin embargo, solamente dos, *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*^{viii}, tienen una frecuencia elevada en población de origen europeo, y al encontrarse en la zona codificante del gen, podrían afectar la actividad enzimática de CYP2C9.

La variante *CYP2C9*2* viene determinada por un SNP que da lugar a un cambio C/T^{ix} en la posición 430 del transcrito^x, lo que genera un cambio de una

^{vii}Hasta el momento se han registrado más de cuatro millones de SNP en todo el genoma, lo que supone alrededor del 90% de la variación genética. La localización del SNP en el gen es importante porque puede influir en la estructura y/o actividad de la enzima que es codificada por ese gen. Si el SNP se sitúa en la región codificante, se alterará la secuencia de los aminoácidos de la proteína codificada, lo que puede afectar a su estructura y, por tanto, a su papel fisiológico en el organismo dando como resultado disminución, pérdida o incremento de su función. Si el SNP aparece en la región reguladora del gen, se puede ver afectada la capacidad de enlace de los factores de transcripción al gen y, por lo tanto, se pueden alterar los niveles normales de expresión del gen y la consiguiente cantidad de proteína expresada. Si se localizan en las regiones no-codificantes del genoma, en principio podría no tener consecuencias sobre la actividad o la estructura de la enzima. En este caso, los SNP tienen más interés como marcadores en la identificación forense y en determinados procesos patológicos de origen genético.

^{viii}Las enzimas y los genes que las codifican, tienen misma manera nomenclatura. Para distinguirlos, se determinó por convenio que, si se hace referencia al gen, se escribe el nombre en cursiva (*CYP2C9*).

arginina (Arg) por una cisteína (Cys) en la posición 144 de la cadena aminoacídica. La variante *CYP2C9*3* está determinada por un SNP que produce un cambio A/C^{xi} en la posición 1075 del transcrito, y en este caso, el cambio en la cadena aminoacídica se produce en la posición 359, provocando que aparezca una leucina (Leu) en lugar de una isoleucina (Ile) (Ingelman-Sundberg 2005). Se ha estimado que entre el 8 y el 19% de la población europea es portadora de la variante *CYP2C9*2* y que entre el 5 y el 15,3% porta la *CYP2C9*3* (Xie y cols. 2002).

En estudios *in vitro* se ha determinado que, en presencia de la variante *CYP2C9*2*, la actividad de la enzima CYP2C9 disminuye un 88%, mientras que la variante *CYP2C9*3* produce una disminución del 95%, respecto a la actividad de la enzima salvaje (Lee y cols. 2002).

5.5.1 Farmacogenética de la enzima CYP2C9

Los trabajos farmacogenéticos realizados con esta enzima se han enfocado, principalmente al estudio de estos dos SNPs. En ellos se ha tratado de valorar el incremento del riesgo de reacciones adversas en los individuos portadores de genotipos con estas variantes. Los principios activos estudiados son fármacos ampliamente utilizados en práctica clínica: warfarina (Higashi y cols. 2002, Aithal y cols. 1999), fenitoína (Kidds y cols. 2001), fenprocumona (Puehringer y cols. 2010) y AINE (Martin y cols. 2001, Vonkeman y cols. 2006, Pilotto y cols. 2007, Ma y cols. 2008, Balnco y cols. 2008 y Carbonell y cols. 2010).

Los trabajos realizados con la warfarina, la fenitoína y la fenprocumona, encontraron que se producía un incremento en el riesgo de padecer RAM en los individuos portadores de la variante *CYP2C9*3* en sus genotipos. Esto es consecuente con lo que habían determinado los estudios previos realizados *in vitro*, que aunque ambas variantes daban lugar a una enzima CYP2C9 con una actividad menor que la de la enzima salvaje, la variante *CYP2C9*3* producía una disminución en la actividad enzimática del 95%.

^{ix}C/T cambio de una citosina por una timina.

^xEl transcrito es el segmento de ARN mensajero sintetizado durante la transcripción genética, quemantiene la información de la secuencia del ADN.

^{xi}A/C cambio de una adenina por una citosina.

Por el contrario, los estudios realizados con AINE obtienen unos resultados muy heterogéneos y con un nivel de evidencia que no permite concluir si existe o no un incremento en el riesgo de hemorragia gastrointestinal en los pacientes expuestos y portadores de alguna de estas variantes. Así que, hasta la fecha no ha sido posible determinar cuál es el riesgo de HGI en los pacientes que consumen AINE y que porten genotipos con los polimorfismos descritos. Conocer dicho riesgo es la principal motivación de este trabajo.

II. Justificación y objetivos

Millones de personas en todo el mundo consumen AINE a diario para aliviar el dolor, la fiebre y la inflamación. A pesar de ser uno de los grupos terapéuticos más utilizados en todo el mundo, el tratamiento con AINE está asociado a la aparición de diversas reacciones adversas, las más frecuentes y graves son las gastrointestinales. La elevada morbi-mortalidad de estas RAM está relacionada con una disminución de la calidad de vida de los pacientes y, además, su tratamiento supone un gran coste para los diferentes sistemas de salud. Por otro lado, estas RAM tienen una elevada variabilidad interindividual, de forma que algunos individuos desarrollan HGI en un corto período de tiempo al consumir AINE, mientras que otros sujetos, consumiendo las mismas dosis, no las desarrollan.

Uno de los factores más relevantes de la variabilidad interindividual de un tratamiento, es la presencia de polimorfismos en los genes que codifican las enzimas implicadas en el metabolismo farmacológico. En el caso de los AINE, se ha determinado que la enzima CYP2C9 podría tener un papel relevante en la

variabilidad interindividual de las RAM gastrointestinales, porque (1) es la enzima que metaboliza mayoritariamente casi todos los AINE y (2) se han descrito más de 30 variantes en el gen que la codifica, que podrían alterar su actividad metabolizadora. Sin embargo, en población de origen europeo, los estudios se han centrado en las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* debido a sus elevadas frecuencias en esta población y a que su presencia podría alterar la actividad de la enzima *CYP2C9*, ya que ambas variantes se encuentran en la zona codificante del gen. En estudios *in vitro* se ha demostrado que la actividad de la enzima *CYP2C9* sintetizada a partir de un gen portador de la variante *CYP2C9*2* se reduce un 88% respecto a la actividad de la enzima salvaje y, si la enzima es sintetizada a partir de un gen portador de la variante *CYP2C9*3*, la actividad disminuye un 95%.

Por otro lado, las reacciones adversas gastrointestinales de los AINE son dosis-dependientes, de forma que el riesgo de sufrir HGI es mayor cuanto más se incrementa la dosis de AINE consumida por el paciente. Así, la concentración plasmática de AINE será mucho más elevada en presencia de las variantes *CYP2C9*2* y/o *CYP2C9*3* y, debido a la naturaleza dosis-dependiente de esta RAM, a igualdad de dosis consumida, el riesgo de padecer HGI sería mucho mayor en los individuos portadores de alguna de estas variantes.

Los estudios farmacogenéticos realizados con sustratos de la enzima *CYP2C9* que tienen estrecho margen terapéutico, como la warfarina o la fenitoína, demostraron que los portadores de la variante *CYP2C9*3* tienen mayor riesgo de sufrir HGI que los individuos no portadores. Sin embargo, los trabajos realizados con AINE tienen un grado de evidencia bajo debido a que obtienen unos resultados muy heterogéneos, por lo que no ha sido posible establecer si en los portadores de estas variantes se produce un incremento del riesgo de HGI.

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, el objetivo principal de este trabajo consiste en realizar un estudio exhaustivo sobre la influencia de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en el incremento del riesgo de hemorragias gastrointestinales por consumo de AINE. Los objetivos específicos establecidos para llevarlo a cabo, fueron los siguientes:

- i. Realizar una revisión sistemática y crítica y de los artículos científicos publicados hasta el momento acerca del incremento del riesgo de padecer HGI

en pacientes consumidores de AINE y portadores de las variantes *CYP2C9*2* y/o *CYP2C9*3*.

- ii. Determinar la frecuencia y la distribución de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en la población del suroeste de Europa y establecer si existe algún tipo de sub-estructuración genética en Europa en alguna de las variantes, comparando las frecuencias calculadas con las estimadas en publicaciones previas.
- iii. Calcular el riesgo de HGI en los individuos portadores de las variantes codificantes del *CYP2C9*, teniendo en cuenta la dosis de AINE consumida.
- iv. Valorar la posible interacción entre consumo de AINE y presencia de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*

III. Revisión sistemática y crítica

Influencia de las variantes genéticas del *CYP2C9* en las hemorragias gastrointestinales asociadas al consumo de antiinflamatorios no esteroideos

Influencia de las variantes genéticas del CYP2C9 en las hemorragias gastrointestinales asociadas al consumo de antiinflamatorios no esteroideos: una revision sistemática y crítica.

Estany-Gestal A, Salgado-Barreira A, Sánchez-Diz P, Figueiras A and on behalf on EMPHOGEN project.

Pharmacogenet. Genomics. 2011; 21: 357-4.

RESUMEN

La presencia de polimorfismos genéticos en las enzimas metabolizadoras puede considerarse una de las principales causas de variación interindividual en la respuesta a los medicamentos y en la aparición de reacciones adversas. En el caso de la enzima CYP2C9, la presencia de variantes genéticas en la zona codificante del genoma, podría ser considerada un factor de riesgo de padecer hemorragias gastrointestinales asociado al uso de antiinflamatorios no esteroideos, debido a una reducción en la tasa de metabolización de la enzima.

Objetivo: Realizar una revisión sistemática y crítica, con el fin de evaluar si la presencia de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* podría incrementar el riesgo de sufrir hemorragias gastrointestinales en consumidores de antiinflamatorios no esteroideos.

Método: Se utilizó el MEDLINE como base de datos y la búsqueda se limitó a artículos publicados en lengua inglesa.

Resultados: Seis artículos cumplen los criterios de inclusión: mientras que tres no aportan resultados porque no encuentran en sus muestras genotipos homocigotos mutados con las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*, otro asocia el riesgo de sangrado a la presencia de la variante *CYP2C9*2* y dos de ellos lo asocian a la presencia de la variante *CYP2C9*3*.

Conclusiones: Alguno de los artículos incluidos en esta revisión contienen limitaciones metodológicas que impiden establecer si el riesgo de sufrir

hemorragias gastrointestinales debido al uso de antiinflamatorios no esteroideos, es mayor en presencia de las variantes codificantes del CYP2C9.

Influence of CYP2C9 genetic variants on gastrointestinal bleeding associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a systematic critical review

Ana Estany-Gestal^{a,c}, Angel Salgado-Barreira^{a,d}, Paula Sánchez-Diz^b, Adolfo Figueiras^{a,d} and on behalf of the EMPHOGEN project

The existence of genetic polymorphisms in metabolizing enzymes can be regarded as one of the principal causes of interindividual variation in response to drugs and adverse reactions. In the case of enzyme CYP2C9, the presence of genetic coding variants could be considered a risk factor for suffering from gastrointestinal haemorrhages associated with the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, due to a reduction in the enzyme's rate of metabolism. The aim of this study was to conduct a systematic critical review aimed at assessing whether the presence of CYP2C9*2 and CYP2C9*3 could increase the risk of suffering from gastrointestinal haemorrhages due to nonsteroidal anti-inflammatory drug use. Using MEDLINE as the data source, the search was limited to scientific studies published in English. Six studies met the inclusion criteria, whereas three reported no results because there were no homozygous mutant genotypes for CYP2C9*2 and *3 in their samples, risk of bleeding was associated by one with the presence of CYP2C9*2 and by two with the CYP2C9*3 coding variant. Some of the studies included in this review contained methodological limitations, which prevented the increased risk of suffering

gastrointestinal haemorrhages due to nonsteroidal anti-inflammatory drug use from being satisfactorily linked to the presence of CYP2C9 coding variants.

Pharmacogenetics and Genomics 21:357–364 © 2011 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins.

Pharmacogenetics and Genomics 2011, 21:357–364

Keywords: CYP2C9, CYP2C9*2, CYP2C9*3, gastrointestinal haemorrhage, nonsteroidal anti-inflammatory drugs

^aDepartment of Preventive Medicine and Public Health, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain, ^bGenomic Medicine Group, Consortium for Biomedical Research in Rare Diseases (Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras-CIBERER), Institute of Forensic Medicine, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, ^cInstitute of Health Research of Santiago de Compostela (IDIS) and ^dConsortium for Biomedical Research in Epidemiology and Public Health (Centro de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública-CIBER, Spain) *See the complete list of participants of the EMPHOGEN project at the end of the text

Correspondence to Adolfo Figueiras, PhD, Department of Preventive Medicine and Public Health, University of Santiago de Compostela, C/San Francisco s/n 15782 Santiago de Compostela, Spain
Tel: +34 981 581 237; fax: +34 981 950 406;
e-mail: adolfo.figueiras@usc.es

Received 11 October 2010 Accepted 14 March 2011

Introduction

Adverse drug reactions (ADRs) are one of the principal public health problems [1,2], as they have considerable impact in terms of morbidity–mortality [3–5] and cost [4,5]. Gastrointestinal haemorrhages (GIH), which are the most frequent severe ADRs, give rise to most hospital admissions [6] and, to a great extent, are associated with the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) [7–10]. It is said that the consumption of NSAIDs increases the risk of GIH to approximately seven-fold [11].

The CYP2C subfamily comprises a group of hepatic enzymes that belong to the P450 cytochrome and are responsible for the metabolism of 20% of the medical drugs most used in clinical practice [12]. CYP2C9 is one of the enzymes in this subfamily, and is the principal metabolizer of most NSAIDs and other drugs with a narrow therapeutic index, such as oral anticoagulants and oral antidiabetics [12–14]. In-vitro studies have highlighted the fact that some variants of the gene, which codes for this enzyme, are associated with significant reductions in the clearance of CYP2C9 substrates among which are CYP2C9*2 and CYP2C9*3 [15,16]. In-vivo

studies on CYP2C9 substrates, such as warfarin [17,18] and phenytoin [19], highlight the fact that individual carriers of CYP2C9*2 and CYP2C9*3 variants from European population groups, could have a higher risk of ADRs.

In the case of NSAIDs, risk of GIH is dose-dependent [8], something that would mean that individuals with slow metabolizing CYP2C9 variants could have an increased risk of haemorrhage. To date, six studies have put this hypothesis to the test *in vivo* but their respective results are very different [20–25].

The aim of this critical systematic review was to assess all the available evidence on risk of suffering from GIHs associated with NSAID use among carriers of loss of function variants of the gene which codes for enzyme CYP2C9 (CYP2C9*2 and CYP2C9*3).

Materials and methods

Search strategy

On 1 June 2010, a review was conducted of scientific literature in the MEDLINE database. The terms included in the search strategy were 'CYP2C9 AND (NSAID OR

NSAIDS) AND (haemorrhage OR haemorrhages OR gastric ulcer OR gastrointestinal bleeding)*. No time limit was set. In addition, other search engines, such as Google Scholar, were also used.

Inclusion criteria

To be eligible for selection, studies had to meet the following inclusion criteria: (i) the language used had to be English, (ii) they had to be original studies, and (iii) their stated objective had to be that of associating GIH caused by NSAID use with the presence of the *CYP2C9**2 and *CYP2C9**3 coding variants.

Study selection

After a critical reading, studies were selected by two researchers (A.E.G. and A.S.B.), acting independently and using a standardized method. Papers were selected on the basis of the above-described criteria, and in the event of disagreement between the assessors, inclusion was assessed by a third party (A.F.G.).

Data extraction

The methodological parameters and the main data about the subjects of the studies included in this review were extracted and a table was constructed listing the most relevant information: author and year of publication, country, design, sample size, definition of study group and controls, NSAID dose and type of exposure, Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) test, genotyping techniques, and statistical analyses used to contrast the hypothesis (Table 1).

Results

Study selection

The search of scientific literature retrieved a total of 19 papers from MEDLINE. Of these, one was excluded because it was not available in English, four were not original studies, and seven failed to associate NSAID-related GIHs with the presence of the *CYP2C9**2 and *CYP2C9**3 variants. After a critical reading of the abstracts, seven documents [20–25,33] were selected for review of the complete text. Lastly, the study performed by Martínez *et al.* [33] was not included in this review to avoid duplication because these same researchers published a subsequent paper [24], in which they increased the size of the case and control samples previously used by them, and attempted to control for confounders (Fig. 1).

Although no time limit was formally set, no publication was found to predate 1996.

Data extraction

Design and sample size

The design used in the studies was specified in only two of the six papers included, with Pilotto *et al.* [22] stating

that their study had been based on a case-control design and Carbonell *et al.* [25] stating that theirs had been based on a prospective, multicentre case-case design.

In the studies following a case-control design [20,22–24], cases were defined as NSAID-exposed patients with GIHs, and controls as NSAID-exposed patients without GIHs, except for Vonkeman *et al.* [21], where the controls were individuals exposed to oral anticoagulants.

Carbonell *et al.* [25] used a multicentre case-case design, where the study group was made up of GIH sufferers exposed to NSAIDs other than aspirin, and the comparison group was made up of GIH sufferers exposed to aspirin. In addition, this study used a comparison group comprising healthy volunteers (without GIHs after taking NSAIDs) recruited for the purpose of a previous study investigating the pharmacogenetics of an oral coagulant [34].

The sample size of the studies analysed ranged from 23 to 134 individuals in the case groups, and from 31 to 177 in the control groups.

Hardy-Weinberg equilibrium and comparability with previous data

Testing for deviations from HWE was performed in the studies by Pilotto *et al.* [22], Blanco *et al.* [24] and Carbonell *et al.* [25]. In these three studies, all the control samples were in accordance with the HWE. Only Carbonell *et al.* [25] found deviations from Hardy-Weinberg expectations for the *CYP2C9**3 variant in the patients treated with NSAIDs other than aspirin.

In contrast, Martin *et al.* [20] and Vonkeman *et al.* [21] used a χ^2 test to compare their genotype frequencies to previously published data (Stubbins *et al.* [35] and Kirchheiner and Brockmöller [12], respectively), whereas Ma *et al.* [23] performed no test to assess deviations from the HWE, nor did they compare their findings to other already published frequencies.

Statistical analysis

Pilotto *et al.* [22] performed a binary logistic regression to establish the increased risk of suffering GIH associated with NSAID use in the presence of *CYP2C9* coding variants. For their part, Blanco *et al.* [24] and Carbonell *et al.* [25] conducted a bivariate analysis to establish which covariates were to be taken into account when calculating risk with the multivariate model. The other studies included in this review [20,21,23] did not perform statistical analyses.

The presence of *Helicobacter pylori* is considered as an important risk factor of suffering GIH [36]. Thus, Carbonell *et al.* and Blanco *et al.* introduced it as a covariable in the multivariate statistical analysis, whereas Martin *et al.* and Pilotto *et al.* regarded it as an exclusion criterion. In contrast, Ma *et al.* and Vonkeman *et al.* did not reflect any assessment of the presence of *H. pylori*.

Table 1 Description of methods

| References (country) | Study design (n study–n comparison) | Definition of study group | Definition of comparison group | Covariates | NSAID dose and type of exposure | Hardy–Weinberg equilibrium test | Genotyping technique | Statistical technique used to contrast hypothesis |
|---|--|--|---|---|--|---|---|--|
| Martin <i>et al.</i> [20] (New Zealand) | Case–control among exposed individuals (23–31) | Exposed to NSAIDs with GIHs ^a | Exposed to NSAIDs without GIHs | None | Dose: milligrams/day Exposure: not specified | Not performed | Described in Sullivan-Klose <i>et al.</i> [15], Yasar <i>et al.</i> [26], and Veronese <i>et al.</i> [27] | Not performed |
| Vonkeman <i>et al.</i> [21] (Holland) | Case–control among exposed individuals (26–87) | Exposed to NSAIDs with GIHs ^b | Exposed to OAC without GIHs | None | Dose: ^c medium, low or high Exposure: any | Not performed | Described in Bon <i>et al.</i> [28] | Not performed |
| Pilotto <i>et al.</i> [22] (Italy) | Case–control among exposed individuals (26–52) | Exposed to NSAIDs with GIHs ^d | Exposed to NSAIDs without GIHs | Comorbidity | Dose: not specified Exposure: acute (7 days–1 month) | Performed in other variants | Described in Margaglione <i>et al.</i> [29] | Binary logistic regression |
| Ma <i>et al.</i> [23] (China) | Case–control among exposed individuals (52–57) | Exposed to NSAIDs with GIHs ^e | Exposed to NSAIDs without GIHs | None | Dose: milligram/day Exposure: any (regular exposure for at least 2 weeks) | Not performed | Described in Wang <i>et al.</i> [30] | Not performed |
| Blanco <i>et al.</i> [24] (Spain) | Case–control among exposed individuals (134–177) | Exposed to NSAIDs with GIHs ^f | Exposed to NSAIDs without GIHs | Sex, age, duration of therapy, history of GI bleeding, <i>H. pylori</i> +, drinking, smoking | Dose: not specified Exposure: acute | Performed: equilibrium | Described in Garcia-Martin <i>et al.</i> [31] | Kruskal–Wallis test, multivariate logistic regression |
| Carbonell <i>et al.</i> [25] (France) | Case–case (57–131) | Exposed to NSAIDs with GIHs ^g | Exposed to aspirin with GIHs healthy volunteers (without GI discomfort after taking NSAIDs) | Concomitant treatments: glucocorticoids, anti-coagulants, anti-aggregants, or antiulcer drugs <i>H. pylori</i> +, history of GI bleeding | Dose: not specified Exposure: any (NSAID treatment for 1 week) | Performed: no equilibrium in CYP2C9*3 variant among the study group | Described in Verstuyft <i>et al.</i> [32] | Chi-squared test, Fisher's test and Student's t-test, multivariate logistic regression |

GIH, gastrointestinal haemorrhages; OAC, oral anticoagulants.

^aNot included: patients reporting chronic use of drugs metabolized by CYP2C9; patients on aspirin; *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)-positive patients.^bNot included: endoscopy or surgery failed to reveal bleeding or malignancy or any other cause of gastrointestinal (GI) bleeding.^cMedium=recommended maximum daily dose; low=less than the recommended maximum daily dose; high=more than the recommended maximum daily dose.^dNot included: patients bleeding from oesophageal varices; patients with coagulation diseases or upper GI neoplasia; *H. pylori*-positive patients; patients reporting chronic use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) or chronic or acute use of aspirin patients reporting chronic use of drugs metabolized by CYP2C9 or gastroprotective drugs, histamine 2 blockers or misoprostol.^eNot included: patients reporting chronic use of drugs metabolized by CYP2C9; patients with other diseases affecting GI tract; and pregnant patients.^fNot included: patients or controls taking NSAIDs for gastric pain; patients receiving two or more NSAIDs, proton pump inhibitors or histamine 2 blockers; and patients exposed to CYP2C8 or CYP2C9 substrates or inhibitors.^gNot included: patients bleeding from oesophageal varices or cancer; patients with Child–Pugh class B or C cirrhosis; patients with concomitant intake of aspirin or any other type of NSAID during the week before the bleeding, or on concomitant treatment known to induce or inhibit CYP2C9.

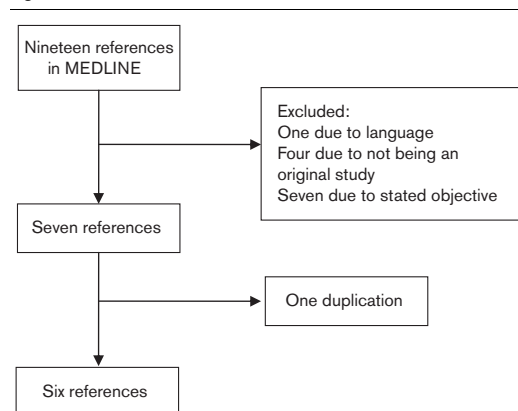
Results of the studies included in the review

In view of the genotype frequencies obtained (Table 2), Martin *et al.* [20], Vonkeman *et al.* [21] and Ma *et al.* [23] concluded that both CYP2C9*2 and CYP2C9*3 variants did not play a clinically relevant role as a risk factor for GIH associated with NSAID use.

Both Pilotto *et al.* [22] and Carbonell *et al.* [25] concluded, however, that the increased risk was linked to the presence

of the CYP2C9*3 variant. Although Pilotto *et al.* [22] reported that the presence of the CYP2C9*3 variant was associated with an odds ratio (OR) of risk of bleeding of 7.3 [95% confidence interval (CI): 2.058–26.004], no significant association was observed for the allele CYP2C9*2 [OR = 2.0 (95% CI: 0.264–6.317)]. Nevertheless, analysis of genotype frequencies showed that risk of gastric bleeding was associated with an OR = 3.8

Fig. 1



Flow chart.

(95% CI: 1.090–13.190) among *CYP2C9**1/*2 patients and an OR = 12.9 (95% CI: 2.917–57.922) among *CYP2C9**1/*3 carriers.

For their part, Carbonell *et al.* [25] found that the *CYP2C9**3 variant had a significantly (3.7 times) higher frequency among patients who made up the nonaspirin versus the aspirin NSAIDs-exposed group. The differences between the *CYP2C9**2 frequencies in these two groups did not prove significant. Furthermore, in the genotype analysis, these authors considered the following three groups: (i) wild-type homozygous genotype, (ii) *CYP2C9**1/*2 and *CYP2C9**1/*3 genotype and (iii) *CYP2C9**2/*2, *CYP2C9**3/*3 and *CYP2C9**2/*3 genotype carriers. Allele frequencies of those genotypes containing mutated alleles were found to be significantly higher in the group of patients treated with nonaspirin NSAIDs (Table 2, Carbonell *et al.* [25]).

In contrast, Blanco *et al.* [24] reported that the joint presence of *CYP2C8**3 and *CYP2C9**2 posed an increased risk of GIH among patients receiving NSAIDs which were *CYP2C8* and *CYP2C9* substrates, with an OR = 3.73 (95% CI: 1.53–7.56). Furthermore, they observed that the presence of *CYP2C9**3 was not associated with any increase in this risk [OR = 1.29 (95% CI: 0.53–3.13)].

Discussion

Assessment of the association between the presence of *CYP2C9**2 and *CYP2C9**3 and risk of GIH among NSAIDs users yielded widely varying results: while three studies were unable to assess the association [21,23], one reported an association with the joint presence of the *CYP2C8**3 and *CYP2C9**2 variants [24], and the others observed an association with the *CYP2C9**3 variant

[22,25]. Furthermore, most of the studies displayed important methodological limitations in design, sample size, definition of NSAID exposure and dose effect.

Study design

Four of the six studies [20,21,23,24] omitted to specify the design used. Indeed, this was defined only by Carbonell *et al.* [25], who classified it as a case–case design, and by Pilotto *et al.* [22], who defined it as a case–control design.

The rest of the studies that failed to specify their designs [20,21,23,24] and also the study undertaken by Pilotto *et al.* [22] used a partial case–control design based on individuals exposed to NSAIDs (except the study by Vonkeman *et al.* [21], in which the controls were individuals exposed to oral anticoagulants). The fact that individuals who were not NSAIDs users (unexposed individuals) were not included in the design means that the studies were unable to take into account the likely direct effect of functional variants of *CYP2C9* on risk of suffering from GIHs. This, in turn, renders it impossible to ascertain whether the increase in risk of GIHs is due either to the interaction between slow metabolizing variants and NSAID use, or directly to the presence of functional variants of *CYP2C9**2 and *CYP2C9**3.

Moreover, in case–control studies that are limited to exposed individuals, the selection of the control group is particularly delicate, in as much as both cases and controls should share the same exposure. In the study conducted by Vonkeman *et al.* [21], controls exposed to oral anticoagulants were selected, whereas cases comprised individuals exposed to NSAIDs. Although oral anticoagulants are also mostly metabolized by *CYP2C9*, the fact that the controls were exposed to drugs belonging to a therapeutic group different to that of the cases, amounts to an important limitation, in that two therapeutic groups exposed to different drugs are not comparable as far as risk of suffering from the same adverse reaction is concerned.

Case–case design studies, such as that conducted by Carbonell *et al.* [25], must assume that genetics and environmental exposure are independent factors [37]. Nevertheless, there will be rarely sufficient empirical data to support this assumption of independence [38]. Thus, in GIH associated with NSAID use, this supposition might not be fulfilled because *CYP2C9*-variant carriers (who were ignorant of their status) could be at greater risk of suffering GIH than noncarriers, and so be far more likely to make empirical changes with the drugs until finding an NSAID that proved less harmful to them (e.g. one that was metabolized to a low extent by the *CYP2C9* enzyme). Furthermore, a case–case design enables multiplicative rather than additive interactions to be determined, being the latter the most common type of interaction in biology [39].

Table 2 Description of results

| | Genotype <i>n</i> (proportion) | | | | | | | | | | | | | Variants associated with increased risk of GIH due to NSAID use |
|------------------------------|--------------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------|-----------|-----------------------|-------------------------|---------------------|----------|---------------------|----------|----------|---|
| | <i>CYP2C9</i> *1/*1 | | <i>CYP2C9</i> *1/*2 | | <i>CYP2C9</i> *1/*3 | | <i>CYP2C9</i> *2/*3 | | <i>CYP2C9</i> *2/*2 | | <i>CYP2C9</i> *3/*3 | | | |
| | Study group | Control | Study group | Control | Study group | Control | Study group | Control | Study group | Control | Study group | Control | | |
| Martin <i>et al.</i> [20] | 16 (0.70) | 18 (0.58) | 4 (0.17) | 9 (0.29) | 3 (0.13) | 4 (0.13) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | None |
| Vonkeman <i>et al.</i> [21] | 17 (0.65) | 56 (0.64) | 7 (0.27) | 12 (0.14) | 2 (0.08) | 14 (0.16) | 0 | 5 (0.06) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | None |
| Pilotto <i>et al.</i> [22] | 9 (0.35) | 39 (0.75) | 7 (0.27) | 8 (0.15) | 9 (0.35) | 3 (0.06) | 1 (0.04) | 2 (0.04) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | <i>CYP2C9</i> *3 |
| Ma <i>et al.</i> [23] | 51 (0.98) | 57 (1) | 1 (0.02) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | None |
| Blanco <i>et al.</i> [24] | 64 (0.48) | 106 (0.59) | 38 (0.29) | 42 (0.24) | 18 (0.13) | 20 (0.11) | 6 (0.045) | 3 (0.02) | 6 (0.04) | 3 (0.02) | 1 (0.02) | 2 (0.01) | 2 (0.01) | <i>CYP2C9</i> *2 ^a |
| Carbonell <i>et al.</i> [25] | 25 (0.44) | 88 (0.67) ^b | 26 (0.46) ^c | 39 (0.30) ^{b,d} | – | – | 6 (0.10) ^e | 4 (0.03) ^{b,f} | – | – | – | – | – | <i>CYP2C9</i> *3 |

GIH, gastrointestinal haemorrhages.

^aRisk obtained due to presence of CYP2C8*3 and CYP2C9*2 variants.^bGroup corresponds to case–case design comparison group comprising patients treated with aspirin.^cHeterozygous (*1/*2 or *1/*3) for patients treated with NSAIDs other than aspirin.^dHeterozygous (*1/*2 or *1/*3) for patients treated with aspirin.^eHomozygous variant or heterozygous compound (*2/*2 or *3/*3 or *2/*3) for patients treated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) other than aspirin.^fHomozygous variant or heterozygous compound (*2/*2 or *3/*3 or *2/*3) for patients treated with aspirin.

Sample size and genotype frequencies

The frequencies of functional variants of *CYP2C9* are fully described in the literature and indicate that in European populations, the allele frequency of *CYP2C9*2* ranges from 8 to 19%, and that of *CYP2C9*3* from 5 to 15.3% [13,40,41]. Accordingly, the theoretical prevalence of mutant homozygous genotypes (*2/*2 and *3/*3) is less than 2.5%. This explains why in studies having small sample sizes [20,21] (23–26 patients in the study group and 31–87 in the control group), the likelihood of finding mutant homozygous genotypes is very low. Thus, in the study conducted on a Chinese population [23], there was only one patient who carried a mutant allele. This finding was to be expected, as the frequency of these variants is lower in the Chinese than in the European population (0.1% for the *CYP2C9*2* and 3.6% for the *CYP2C9*3* variant) [42]. In fact, only two studies detected individuals with mutant homozygous genotypes [24,25]. Furthermore, a small sample size could be also a bar to have the statistical power needed to determine the risk of GIH associated with NSAID use among carriers of *CYP2C9* coding variants.

Hardy–Weinberg equilibrium and comparability with previous data

Assessment of the HWE in the control group is essential because, if Hardy–Weinberg expectations are fulfilled (i.e. genotype frequencies can be estimated from allele frequencies), this means that factors, such as genotyping errors, mutation, genetic drift or population stratification, can be assumed to have had no effect on the results obtained [43].

Hence, if allele frequencies of the variants studied in cases are not in line with HWE, this could be because the presence of mutated alleles is related to suffering the disease. A HWE test was, therefore, performed by

Pilotto *et al.* [22], Carbonell *et al.* [25] and Blanco *et al.* [24] (although the last-mentioned authors omit to explain how the HWE was assessed).

Although Pilotto *et al.* [22] performed the HWE test for the apolipoprotein E and angiotensin I-converting enzyme loci, the finding that these loci are according to Hardy–Weinberg expectations in the study population, this is no bearing on whether the *CYP2C9*2* and *CYP2C9*3* frequencies are in accordance with the HWE. Moreover, the small size of the control group ($n = 52$) implies that the results of the test have low statistical power. Carbonell *et al.* [25] observed that, although the *CYP2C9*3* variant failed to meet the requirements for HWE in the study group, it did so in the aspirin-group. This might be indicative of an association between the *CYP2C9*3* variant and risk of suffering from GIH in the study group. In contrast, the *CYP2C9*2* variant met the HWE requirements in both groups. In contrast, Blanco *et al.* [24] found that patients and controls were at HWE, whereas Martin *et al.* [20], Vonkeman *et al.* [21] and Ma *et al.* [23] failed to perform the test.

Martin *et al.* [20] and Vonkeman *et al.* [21], conducted a comparison using a χ^2 test with previously published data on the frequency of the gene (Stubbins *et al.* [35] and Kirchheiner and Brockmöller [12], respectively) but did not report the results of this analysis.

In the study by Ma *et al.* [23] no reference is made to the HWE, and no comparison is conducted between the control group and previous data on a Chinese population.

Exposure to nonsteroidal anti-inflammatory drugs and dose effect

Regarding the exposure of NSAIDs, there are two methodological matters of importance: (i) the NSAIDs

included in the study and (ii) the measurement of the NSAID dose. As an inclusion criterion, all studies deemed NSAIDs to be substrates of the enzyme CYP2C9 (or CYP2C9 and CYP2C8 in the case of Blanco *et al.* [24]).

It is known that the NSAIDs being substrates of the CYP2C9 are not metabolized at the same proportion by this enzyme [44]. Hence, to perform an analysis considering the proportion of each NSAID metabolized by CYP2C9, increasing the sample size several times would be needed.

With respect to measurement of the NSAID dose, Martin *et al.* [20] and Blanco *et al.* [24] added up the total amount of milligrams of NSAIDs/day, an approach that constitutes an important limitation because each type of NSAIDs has a dose that is not comparable with that of one another NSAIDs (indeed, the defined daily doses of each NSAIDs are very different). Pilotto *et al.* [22] assessed the risk of gastric bleeding with all NSAIDs, without specifying the dose. On this point, Vonkeman *et al.* [21] made the most appropriate approximation of the dose effect, in that they assessed the NSAID dose by categorizing it into medium, high and low, thereby enabling different NSAIDs to be compared with one another.

Statistical analysis

Only half the papers included in this systematic review [22,24,25] performed statistical analyses to establish the increased risk of GIH associated with consumption of NSAIDs in patients carrying the *CYP2C9*2* and/or *CYP2C9*3* variants.

The technique used by Pilotto *et al.* [22] (binary logistic regression) is inappropriate for their type of case-control design because it takes no account of the matching between case and controls. Blanco *et al.* [24] and Carbonell *et al.* [25], for their part, did not match cases to controls.

In contrast, even though Pilotto *et al.* [22] accounted for many confounding factors, they, nonetheless, failed to assess patient characteristics such as alcohol consumption or smoking, which can also exert an influence on the presence of gastric damage. Moreover, they deemed comorbidity to be the only covariate in the analysis. With regard to both the studies by Blanco *et al.* [24] and Carbonell *et al.* [25], they performed bivariate analyses to establish which covariates should be part of the multivariate analysis. Blanco *et al.* [24] do not, however, define the criteria used to construct the multivariate models, and their main conclusions appear to be drawn from the bivariate analysis.

Likewise, the infection by *H. pylori* should be considered as an important covariate in the studies related to GIH [45,46]. However, Ma *et al.* [23] and Vonkeman *et al.* [21], did not seem to take into account the presence of *H. pylori* and, although they include 'other gastric

diseases' in their exclusion criteria, there would be patients suffering from *H. pylori* infection who do not present any symptoms.

Discussion of the results of the studies

The results obtained in these studies seem to suggest that increased risk of GIH due to NSAID use is mainly associated with the presence of the *CYP2C9*3* variant [47]. Only the study performed by Blanco *et al.* [24] contradicts both this conclusion and the findings reported by in-vitro studies [12,13], something that may be possibly due to the methodological limitations discussed above.

Owing to the low frequency of mutant genotypes in their sample, neither Martin *et al.* [20], and Vonkeman *et al.* [21] nor Ma *et al.* [23] could establish the risk, and thus concluded that these variants were not linked to the risk of suffering a GIH. The remaining three studies [22,24,25] obtained different results: (i) Carbonell *et al.* [25] established that the frequency of the *CYP2C9*3* variant was significantly higher in the study group (nonaspirin NSAID users) than in the comparison group (aspirin users); (ii) Pilotto *et al.* [22] maintained that both *CYP2C9*1*2* and *CYP2C9*1*3* carriers had a significant risk of bleeding, yet on performing the analysis with the allele frequencies, they only associated risk of bleeding with the presence of the *CYP2C9*3* allele; and, (iii) Blanco *et al.* [24] reported that the increased risk of suffering GIHs due to NSAID use was associated with the joint presence of *CYP2C8*3* and *CYP2C9*2*. Although *CYP2C8*3* and *CYP2C9*2* are said to be in linkage disequilibrium [48,49], this could be a source of controversy, as some studies have shown quite the contrary [50,51]. Moreover, bearing in mind that only three NSAIDs have been described to date as being CYP2C8 substrates [49,52], it is easy for these results to be interpreted as indicating that the increased risk could be associated with the presence of the *CYP2C9*2* variant. Yet this is in contradiction, not only with the findings of the majority of association studies on *CYP2C9* variants, whether *vis-à-vis* NSAIDs [22,25] or other drugs such as warfarin [17,18] or phenytoin [19], but also with the findings of in-vitro studies [12,13]. Furthermore, as no reference category was designated in either analysis (genotype or allelic variant), the results are difficult to interpret: in analyses by genotype and allelic variant, wild genotype (**1*1*) and wild allelic variant (*CYP2C9*1*) should be taken as the respective reference categories [24,53].

Limitations

As in the case of any systematic review, ours is subject to the possibilities of publication bias and/or incompleteness of search. Although our initial intention was to conduct a meta-analysis with the data from these studies, this proved unfeasible due to the heterogeneity of the results and the methodological limitations present.

Conclusions and implications

This review mainly reveals that the designs used in the studies (particularly in terms of study type, sample size, NSAID dosage used in the analyses, and statistical analysis) render it impossible to assess whether there is a clear interaction between exposure to NSAIDs and presence of *CYP2C9* coding variants, or whether the mutant alleles of such variants might increase the risk of suffering from gastrointestinal disorders. It would therefore appear essential for case-control studies to be designed, in which both the case and control groups included NSAID-exposed and NSAID-unexposed individuals, with sample sizes that were in accordance with the prevalence of mutations in the target population and afforded the necessary power to assess what risk, if any, of GIH there would be among carriers of *CYP2C9* loss of function variants.

Acknowledgements

This study was supported by Grants PI021512, PI021364, PI020661, PI021572 (Health Research Fund/Fondo de Investigación Sanitaria, Spain), SAF2002-04057 (Ministry of Health & Consumer Affairs, Spain), PGIDIT03P-XIC20806PN (Galician Regional Authority/Xunta de Galicia, Spain) and 02/1572 (Basque Regional Authority, Spain). P.S.D. was supported by the Isidro Parga Pondal Programme (Galician Technological Research, Development & Innovation Plan/Plan Galego de Investigación, Desenvolvemento e Innovación Tecnolóxica-INCITE, 2006–2010) (Galician Regional Authority). The authors thank María Piñeiro for her invaluable comments on the statistical analysis and Michael Benedict for his help with the English version of this paper. All the authors confirm that they have no conflicts of interest to declare.

References

- Nelson MR, Bacanu SA, Mosteller M, Li L, Bowman CE, Roses AD, *et al.* Genome-wide association to identify pharmacogenetic contributions to adverse drug reactions. *Pharmacogenomics J* 2008; **9**:23–33.
- Pirmohamed M, Park BK. Genetic susceptibility to adverse drug reactions. *Trends Pharmacological Sci* 2001; **22**:298–305.
- Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients. A meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998; **279**:1200–1205.
- Pirmohamed M, James S, Meakin S, Green C, Scott AK, Walley TJ, *et al.* Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18820 patients. *BMJ* 2004; **329**:15–19.
- Martin MH, Codina C, Tuset M, Carné X, Nogué S, Ribas J. Drug related problems as a cause of hospital admission. *Med Clin* 2002; **118**:205–210.
- Spiegel BMR, Chiou CF, Ofman JJ. Minimizing complications from nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cost effectiveness of competing strategies in varying risk groups. *Arthritis Rheum* 2005; **53**:185–197.
- Ramakrishnan K, Salinas RC. Peptic ulcer disease. *Am Fam Physician* 2007; **76**:1005–1012.
- Laporte JR, Ibáñez L, Vidal X, Vendrell L, Leone R. Upper gastrointestinal bleeding associated with the use of NSAID. Newer versus older agents. *Drug Safety* 2004; **27**:411–420.
- Wolfe MM, Lichtenstein DR, Singh G. Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *N Engl J Med* 1999; **340**:1888–1899.
- Singh G. Gastrointestinal complications of prescription and over-the-counter nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a view from the ARAMIS database. *Am J Ther* 2000; **7**:115–122.
- Lanas A, Bajador E, Serrano P, Fuentes J, Carreño S, Guardia J, *et al.* Nitrovasodilators, low-dose aspirin, other nonsteroidal antiinflammatory drugs, and the risk of upper gastrointestinal bleeding. *N Engl J Med* 2000; **343**:834–839.
- Kirchheiner J, Brockmöller J. Clinical consequences of cytochrome P4502C9 polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2005; **77**:1–16.
- Xie H-G, Prasad HC, Kim RB. CYP2C9 allelic variants: ethnic distribution and functional significance. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; **54**:1257–1270.
- Gardiner SJ, Bedd EJ. Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. *Pharmacol Rev* 2006; **58**:521–590.
- Sullivan-Klose TH, Ghayarem BI, Bell DA, Zhang ZY, Kaminsky LS, Shenfield GM, *et al.* The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics* 1996; **6**:341–349.
- Rettie AE, Wienkers LC, González FJ, Trager WF, Korzekwa KR. Impaired (S)-warfarin metabolism catalyzed by the R144C allelic variant of CYP2C9. *Pharmacogenetics* 1994; **4**:39–42.
- Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, *et al.* Association between CYP2C9 genetic variants and coagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA* 2002; **287**:1690–1698.
- Schwartz UI, Ritchie MD, Bradford Y, Li C, Dudek SM, Frye-Anderson A, *et al.* Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N Engl J Med* 2008; **358**:999–1008.
- Aynacioglu AS, Brockmöller J, Bauer S, Sachse C, Güzelbey P, Öngen Z, *et al.* Frequency of cytochrome P450 2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *Br J Clin Pharmacol* 1999; **48**:409–415.
- Martin JH, Begg EJ, Kennedy MA, Roberts R, Barclay ML. Is cytochrome P450 2C9 genotype associated with NSAID ulceration? *Br J Clin Pharmacol* 2001; **51**:627–630.
- Vonkeman HE, Van de Laar MAFJ, Van der Palen J, Brouwers J, Vermes I. Allele variants of the cytochrome P450 2C9 genotype in white subjects from the Netherlands with serious gastroduodenal ulcers attributable to the use of NSAID. *Clin Ther* 2006; **28**:1670–1676.
- Pilotto A, Seripa D, Franceschi M, Scarcelli C, Colaizzo D, Grandone E, *et al.* Genetic susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drug-related gastroduodenal bleeding: role of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Gastroenterology* 2007; **133**:465–471.
- Ma J, Yang XY, Qiao L, Liang LQ, Chen MH. CYP2C9 polymorphism in non-steroidal anti-inflammatory drugs-induced gastropathy. *J Dig Dis* 2008; **9**:79–83.
- Blanco G, Martínez C, Ladero JM, García-Martin E, Taxonera C, Gamito FC, *et al.* Interaction of CYP2C8 and CYP2C9 genotypes modifies the risk for nonsteroidal anti-inflammatory drugs-related acute gastrointestinal bleeding. *Pharmacogenet Genomics* 2008; **18**:37–43.
- Carbonell N, Vertuyft C, Massard J, Letierce A, Cellier C, Deforges L, *et al.* CYP2C9*3 loss-of-function allele is associated with acute upper gastrointestinal bleeding related to the use of NSAID other than aspirin. *Clin Pharmacol Ther* 2010; **87**:693–698.
- Yasar M, Eliasson E, Dahl ML, Johansson I, Ingelman-Sunberg M, Sjöqvist F. Validation of the methods for CYP2C9 genotyping: frequencies of mutant alleles in a Swedish population. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; **254**:628–631.
- Veronese ME, Doecke CJ, Mackenzie PI, McManus ME, Miners JO, Rees DL, *et al.* Site-directed mutation studies of human liver cytochrome P-450 isoenzymes in the CYP2C subfamily. *Biochem J* 1993; **289**:533–538.
- Bon MA, Jasen Steur EN, De Vos RA, Vermes I. Neurogenetic correlates of Parkinson's disease: apolipoprotein-E and cytochrome P450 2D6 genetic polymorphism. *Neurosci Lett* 1999; **266**:149–151.
- Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, Brancaccio V, Ciampa A, Grandone E, *et al.* Genetic modulation of oral anticoagulation with warfarin. *Thromb Haemost* 2000; **84**:775–778.
- Wang SL, Huang J, Lai MD, Tsai JJ. Detection of CYP2C9 polymorphism based on the polymerase chain reaction in Chinese. *Pharmacogenetics* 1995; **5**:37–42.
- García-Martin E, Martínez C, Tabarés B, Frias J, Agúndez JA. Interindividual variability in ibuprofen pharmacokinetics is related to interaction of cytochrome P450 2C8 and 2C9 amino acid polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2004; **76**:119–127.
- Verstuyft C, Morin S, Yang J, Lorient MA, Barbu V, Kerb R, *et al.* A new, rapid and robust genotyping method for CYP2C9 and MDR1. *Ann Biol Clin* 2003; **61**:305–309.
- Martínez C, Blanco G, Ladero JM, García-Martin E, Taxonera C, Gamito FG, *et al.* Genetic predisposition to acute gastrointestinal bleeding alter NSAID use. *Br J Pharmacol* 2004; **141**:205–208.

- 34 Morin S, Bodin L, Lorient MA, Thijssen HHW, Robert A, Strabach S, *et al.* Pharmacogenetics of acenocoumarol pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* 2004; **75**:403–414.
- 35 Stubbs MJ, Harries LW, Smith G, Tarbit MH, Wolf CR. Genetic analysis of the human cytochrome P450 2C9 locus. *Pharmacogenetics* 1996; **6**:429–439.
- 36 Bhatt DL, Scheiman J, Abraham NS, Antman EM, Chan FK, Furberg CD, *et al.* ACCF/ACG/AHA 2008 expert consensus document on reducing the gastrointestinal risks of antiplatelet therapy and NSAID use: a report of the American College of Cardiology Foundation. Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol* 2008; **52**:1502–1517.
- 37 Andrieu N, Goldstein AM. Epidemiologic and genetic approaches in the study of gene-environment interaction: an overview of available methods. *Epidemiol Rev* 1988; **20**:137–147.
- 38 Albert PS, Ratnasighe D, Tangrea J, Wacholder S. Limitations of the case-only design for identifying gene-environment interactions. *Am J Epidemiol* 2001; **154**:687–693.
- 39 Ahlborn A, Alfredsson L. Interaction: a word with two meanings creates confusion. *Eur J Epidemiol* 2005; **20**:563–564.
- 40 García-Martín E, Martínez C, Ladero JM, Agúndez JAG. Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals. *Mol Diag Ther* 2006; **10**:29–40.
- 41 Sánchez-Diz P, Estany-Gestal A, Aguirre C, Blanco A, Carracedo A, Ibáñez L, *et al.* Prevalence of CYP2C9 polymorphisms in the south of Europe. *TPJ* 2009; **16**:1–5.
- 42 Yang JQ, Morin S, Verstuyff C, Fan LA, Zhang Y, Xu CD, *et al.* Frequency of cytochrome P450 2C9 allelic variants in the Chinese and French populations. *Fundam Clin Pharmacol* 2003; **17**: 373–376.
- 43 Weiss ST, Silverman EK, Palmer LJ. Case-control association studies in pharmacogenetics. *Pharmacogenomics J* 2001; **1**:157–158.
- 44 Van Oijen MG, Laheij RJ. Impact of CYP2C9 genotype on pharmacokinetics: are all NSAID the same? *Gastroenterology* 2007; **133**:2073–2074.
- 45 Ji KY, Hu FL. Interaction or relationship between *Helicobacter pylori* and non-steroidal anti-inflammatory drugs in upper gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2006; **12**:3789–3792.
- 46 Huang JQ, Sridhar S, Hunt RH. Role of *Helicobacter pylori* infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis. *Lancet* 2002; **359**:14–22.
- 47 Shiotani A, Sakakibara T, Nomura M, Yamanaka M, Nishi R, Imamura H, *et al.* Aspirin-induced ulcer and genetic polymorphisms. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; **25**:31–34.
- 48 Yasar U, Lundgren S, Eliasson E, Bennet A, Wiman B, De Faire U, *et al.* Linkage between the CYP2C8 and CYP2C9 genetic polymorphisms. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **299**:25–28.
- 49 Agúndez JAG, García-Martín E, Martínez C. Genetically based impairment in CYP2C8- and CYP2C9-dependent NSAID metabolism as a risk factor for gastrointestinal bleeding: is a combination of pharmacogenomics and metabolomics required to improve personalized medicine? *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009; **5**:1–14.
- 50 Dai D, Zeldin DC, Blaisdell JA, Chanas B, Coulter SJ, Ghanayem BI, *et al.* Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid. *Pharmacogenetics* 2001; **11**:597–607.
- 51 Rodríguez-Antona C, Niemi M, Backman JT, Kajosaari LI, Neuvonen PJ, Robledo M, *et al.* Characterization of novel CYP2C8 haplotypes and their contribution to paclitaxel and repaglinide metabolism. *Pharmacogenomics J* 2008; **8**:268–277.
- 52 Miners JO, Coulter S, Tukey RH, Veronese ME, Birkett DJ. Cytochromes P450, 1A2, and 2C9 are responsible for the human hepatic O-demethylation of R- and S-naproxen. *Biochem Pharmacol* 1996; **51**:1003–1008.
- 53 Agúndez JA, Martínez C, García-Martín E, Ladero JM. Cytochrome P450 CYP2C9 polymorphism and NSAID-related acute gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2007; **133**:2071–2072.

Appendix

The EMPHOGEN project (Multicentric Study of Genetic Polymorphisms) consists of A. Figueiras, P. López, P. Sánchez-Diz, A. Salgado-Barreira, A. Ruano, E. Domínguez, A. Estany-Gestal (Santiago de Compostela, Spain, coordinating group); S. Ortega, A. Carvajal (Valladolid, Spain); B. Ruiz, C. Aguirre, M. M. de Pancorbo, P. Ruiz (Bilbao, Spain); L. Ibáñez, X. Vidal (Barcelona, Spain) and A. Conforti, R. Leone (Verona, Italy).

IV. Prevalencia de los polimorfismos del *CYP2C9* en el sur de Europa

Prevalencia de los polimorfismos del CYP2C9 en el sur de Europa.

Sánchez-Diz P, Estany-Gestal A, Aguirre C, Blanco A, Carracedo A, Ibáñez L, Passiu M, Provezza L, Ramos-Ruiz R, Ruiz B, Salado-Valdivieso I, Velasco EA and Figueiras A.

The Pharmacogenomics Journal. 2009; 9: 306-10.

RESUMEN

El CYP2C9 es una de las principales enzimas hepáticas responsables del metabolismo de muchos de los medicamentos clínicamente más relevantes. La presencia de polimorfismos genéticos en esta enzima ha sido asociada a una elevada variabilidad interindividual en su actividad catalítica que podría producir toxicidad farmacológica.

Presentamos las frecuencias de las variantes codificantes del CYP2C9, CYP2C9*2 (C430T) y CYP2C9*3 (A1075C) en muestras representativas de cuatro regiones de España (País Vasco, n=358; Cataluña, n=240; el centro de España, n=190 y Galicia, n=288) y una región del norte de Italia (Verona, n=164), que oscilan entre 0,125 y 0,165 en el caso de CYP2C9*2 y entre 0,071 y 0,085 para CYP2C9*3. No se han encontrado diferencias significativas entre las frecuencias alélicas del CYP2C9 al comparar las poblaciones muestreadas. Se realizó un análisis comparativo más amplio a partir de datos de frecuencias alélicas de otras poblaciones europeas. Se encontraron diferencias significativas en la variante CYP2C9*2 en la distribución de las frecuencias alélicas entre algunas de las regiones, mientras que la variante CYP2C9*3 tiene una distribución bastante homogénea.

Los resultados obtenidos muestran que más del 40% de los individuos de nuestras muestras tienen un alelo mutado, lo que podría dar lugar a una metabolización pobre de medicamentos de bajo índice terapéutico sustratos del CYP2C9, como son los anticoagulantes orales (warfarina, acenocumarol), los antidiabéticos orales y la mayoría de los antiinflamatorios no esteroideos.

En este trabajo, además, se presenta una base de datos muy amplia (n=1240) y robusta de la frecuencia de los polimorfismos del CYP2C9, y que, además, es la más grande publicada hasta la fecha de las variantes CYP2C9*2 y CYP2C9*3.



Prevalence of CYP2C9 polymorphisms in the south of Europe

Paula Sánchez-Diz¹, Ana Estany-Gestal², Carmelo Aguirre³, Adoración Blanco⁴, Angel Carracedo¹, Luisa Ibáñez^{5,6}, Marianna Passiu⁷, Lisa Provezza⁸, Ricardo Ramos-Ruiz⁹, Borja Ruiz³, Inés Salado-Valdivieso¹⁰, Eladio A Velasco¹¹ and Adolfo Figueiras^{2,12}

¹Genomics Medicine Group, Institute of Legal Medicine, University of Santiago de Compostela, CIBER for Rare Diseases (CIBERER), Santiago de Compostela, Spain; ²Department of Preventive Medicine and Public Health, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain; ³Unidad de Farmacovigilancia, Hospital de Galdakao-Usansolo, Bilbao, Spain; ⁴Unit of Molecular Hematologic Genetics, Clinical Laboratories, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; ⁵Catalan Institute of Pharmacology, Clinical Pharmacology Service, University Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; ⁶Department of Pharmacology, Therapeutics and Toxicology, Autonomous University, Barcelona, Spain; ⁷Department of Medicine and Public Health, Section of Pharmacology, University of Verona, Verona, Italy; ⁸Department of Mother and Child, Section of Biology and Genetics, University of Verona, Verona, Italy; ⁹Toni Martín Gallardo Genomics Unit, Science Park of Madrid, Madrid, Spain; ¹⁰Cancer Genetics, Institute of Biology and Molecular Genetics (UVA-CSIC), Valladolid, Spain; ¹¹Instituto de Farmacoepidemiología, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain and ¹²Consortium for Biomedical Research in Epidemiology and Public Health (CIBERESP)

Correspondence:

Dr P. Sánchez-Diz, Genomics Medicine Group, Institute of Legal Medicine, University of Santiago de Compostela, c/San Francisco, s/n. 15782 Santiago de Compostela. A Coruña. Spain.
 E-mail: paula.sanchez@usc.es

Received 9 March 2009; accepted 16 March 2009

CYP2C9 is a major liver enzyme responsible of the metabolism of many clinically important drugs. The presence of CYP2C9 genetic polymorphisms has been associated with marked interindividual variability in its catalytic activity that could result in drug toxicity. Here we present frequencies of the most common CYP2C9 coding variants CYP2C9*2 (C430T) and CYP2C9*3 (A1075C) in representative samples of four regions from Spain (Basque Country, $n=358$; Catalonia, $n=240$; Central Spain, $n=190$ and Galicia, $n=288$) and one northern Italian region, (Verona, $n=164$), which range between 0.125 and 0.165 in the case of CYP2C9*2 and between 0.071 and 0.085 for CYP2C9*3. No significant differences between CYP2C9 allele frequencies were found comparing all the sampled populations. A more extensive comparative analysis using allele frequency data of populations widely spread over Europe was performed, showing significant differences in the CYP2C9*2 allele frequencies distribution between some of the regions, being quite homogeneous in the case of CYP2C9*3 variant. The results obtained show that above 40% of our samples carry a mutate allele, which can result in a poor metabolism of low therapeutic index drugs as oral anticoagulants (warfarin, acenocoumarol), oral antidiabetic drugs and some non-steroidal anti-inflammatory drugs. Our study constitutes both a large ($n=1240$) and robust allele frequency database on CYP2C9 polymorphisms, which represents one of the most numerous CYP2C9*2 and *3 database existing to date.

The Pharmacogenomics Journal advance online publication, 21 April 2009; doi:10.1038/tpj.2009.16

Keywords: CYP2C9 polymorphism; CYP2C9 5'-flanking region; allele frequency; Spain; Italy

Introduction

Families 1–3 of the Cytochrome P450 enzymes play a critical role in the oxidative metabolism of the majority of clinically used drugs. These enzymes display polymorphism and their prevalence varies among different populations.^{1–3}

In particular, the polymorphic enzyme CYP2C9 is the most abundant of the CYP2C enzymes,⁴ and it influences the metabolism of about 10–20% of therapeutically important drugs,⁵ some with a narrow therapeutic index. A high number of genetic polymorphisms associated with wide interindividual variability in the hepatic metabolism of target drugs have been described in the regulatory and coding regions of CYP2C9 gene;⁶ however, only two coding variants, CYP2C9*2 (C430T) and CYP2C9*3 (A1075C), with functional consequences are common. CYP2C9*2 codes for a R144C substitution and CYP2C9*3 reflects an I359L change in the amino-acid sequence.⁷ It is thought that these variants are both associated with significant reductions in intrinsic clearance of a

variety of CYP2C9 substrates compared with the wild type, which can result in an increase of dose-dependent adverse drug reactions.^{8–10} For this reason, the knowledge of the prevalence of these CYP2C9 variants is of fundamental relevance for effective drug therapy especially to prevent the adverse response to therapeutic agents.

Currently, some studies on CYP2C9 polymorphisms have been published, but most of them analyse a limited number of individuals from major population groups or large geographic areas.^{11–23} Here we present a descriptive study of the prevalence of the most relevant CYP2C9 polymorphisms, CYP2C9*1 (wild type), CYP2C9*2 and CYP2C9*3, in population samples from both Spain (Basque Country, Catalonia, Central Spain and Galicia) and northern Italy (Verona) summing up a total of 1240 individuals. We also compared the allele frequencies on our population samples with those previously published for other European populations. On the other hand, various single nucleotide polymorphisms (SNPs) were identified in the flanking region of the CYP2C9 gene,²³ which appear to influence CYP2C9 activity. However, the impact of these non-coding SNPs on CYP2C9 activity *in vivo* and in therapeutics still has to be evaluated in Caucasians. Furthermore, it is known that the genetic response could be related not only to individual SNPs but also to the combination of different SNPs in the same and other genes. So, we have analysed one of the most common 5'-flanking region polymorphisms: –1189C>T in the sample from Galicia, according to the methods described in Mas *et al.*¹¹. Our results indicate that in future studies, CYP2C9 haplotypes could be better predictors of pharmacologic response associated to CYP2C9 metabolized drugs.

Results

Validation study

To validate the different methods used for genotyping, a set of 21 samples representing all different detected genotypes, and previously analysed by TaqMan system, were genotyped using single base extension (SBE) by SNaP-shot according to Mas *et al.*¹¹ Concordance was 100% between both methods.

Allele, genotype and haplotype frequencies and Hardy–Weinberg equilibrium

No significant deviations from Hardy–Weinberg expectations were observed in any of the studied populations on both variants (0.0576 < *P* < 0.7921 on CYP2C9*2 and 0.3304 < *P* < 1.000 on CYP2C9*3).

Figure 1 illustrates the CYP2C9 allele frequencies observed in all the analysed populations. The genotype frequencies are summarized in Table 1. In agreement to the published data obtained for other Caucasian populations (Table 2), our results show that CYP2C9*2 allele is more common than CYP2C9*3 in all the samples. We observed that the most frequent genotype is the wild type (*1/*1) followed by the heterozygous for CYP2C9*2 and *3 alleles with an altered function, respectively (Table 1).

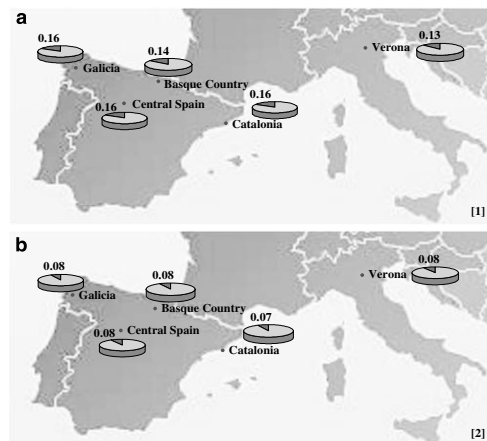


Figure 1 Frequency of the CYP2C9 *2 (a) and *3 (b) variants in the studied population samples.

The sample from Galicia was also typed for the 5'-flanking region polymorphism –1189C>T, and a frequency of 0.6 was obtained for the mutated allele, which was similar to that observed in related populations (~0.62 in Spaniards¹¹).

We measured the linkage disequilibrium between pairs of SNPs and a very high value between 5' –1189C>T and C430T was obtained (*D'* = 0.9) near to that estimated before by Morin *et al.*¹⁶ On the contrary, the *D'* value between A1075C and both the others was lower (*D'* = ~0.5).

Five different haplotypes including the three polymorphisms were inferred (Table 3), bearing in mind that those with a frequency below 0.001 were omitted. We observed that the most frequent four haplotypes were those which were previously detected.^{11,16} No haplotype was determined by the combination of the three polymorphic sites.

Population diversity

CYP2C9*2 and *3 allele frequencies were compared among the sampled populations and also among data previously published for 12 European populations scattered all over the continent from the United Kingdom,¹⁷ Holland,¹⁸ France,¹⁶ Germany,¹⁹ Hungary,²⁰ Italy,²¹ Sweden,²² Turkey,¹² Belgium,¹³ Iran,¹⁴ Spain¹¹ and the Europeans from the United States of America²³ (Table 4).

No significant differences were observed among our five samples in any of the CYP2C9 variants.

Although CYP2C9 allele frequency distributions seem to be quite uniform in European populations, looking at our samples, the CYP2C9*2 frequency comparisons show slightly significant differences in both Catalonia and Galicia versus the United Kingdom (0.0159 ± 0.0037 and 0.0197 ± 0.0041, respectively) and Turkey (0.03395 ± 0.0063 and 0.0318 ± 0.0107, respectively), and between Galicia and Germany (0.0280 ± 0.0063). Significant differences were also

Table 1 Frequency of CYP2C9 genotypes in the study group (n = 1240)

| Genotype | CYP2C9*2 | CYP2C9*3 | Catalonia | Basque Country | Galicia | Central Spain | Total Spain ^a | Verona |
|-------------|----------|----------|-------------|----------------|-------------|---------------|--------------------------|------------|
| CYP2C9*1/*1 | C/C | A/A | 0.608 (146) | 0.600 (215) | 0.583 (169) | 0.558 (106) | 0.591 (636) | 0.604 (99) |
| CYP2C9*1/*2 | C/T | A/A | 0.213 (51) | 0.237 (85) | 0.234 (68) | 0.258 (49) | 0.235 (253) | 0.213 (35) |
| CYP2C9*2/*2 | T/T | A/A | 0.046 (11) | 0.017 (6) | 0.021 (6) | 0.021 (4) | 0.025 (27) | 0.018 (3) |
| CYP2C9*1/*3 | C/C | A/C | 0.096 (23) | 0.123 (44) | 0.107 (31) | 0.131 (25) | 0.114 (123) | 0.159 (26) |
| CYP2C9*3/*3 | C/C | C/C | 0.008 (2) | 0.006 (2) | 0.007 (2) | 0.010 (2) | 0.008 (8) | 0.006 (1) |
| CYP2C9*2/*3 | C/T | A/C | 0.029 (7) | 0.017 (6) | 0.041 (12) | 0.021 (4) | 0.027 (29) | 0 |
| Total | | | 240 | 358 | 288 | 190 | 1076 | 164 |

^aResulting from grouping all the Spanish populations sampled for the study.**Table 2** Distribution of the CYP2C9*2 and CYP2C9*3 allele frequency in different European populations

| Ethnicity | n | C | T (*2) | A | C (*3) | References |
|------------------|------|-------|--------|-------|--------|---------------|
| American (white) | 325 | 0.851 | 0.149 | 0.929 | 0.071 | ²³ |
| British | 561 | 0.894 | 0.106 | 0.947 | 0.053 | ¹⁷ |
| Dutch | 60 | 0.858 | 0.142 | 0.908 | 0.092 | ¹⁸ |
| French | 151 | 0.850 | 0.150 | 0.920 | 0.080 | ¹⁶ |
| German | 367 | 0.894 | 0.106 | 0.922 | 0.078 | ¹⁹ |
| Hungarian | 143 | 0.836 | 0.164 | 0.906 | 0.094 | ²⁰ |
| Italian | 180 | 0.817 | 0.183 | 0.911 | 0.089 | ²¹ |
| Verona | 164 | 0.875 | 0.125 | 0.915 | 0.085 | This study |
| Swedish | 430 | 0.893 | 0.107 | 0.926 | 0.074 | ²² |
| Turkish | 499 | 0.894 | 0.106 | 0.900 | 0.100 | ¹² |
| Belgian | 121 | 0.900 | 0.100 | 0.926 | 0.074 | ¹³ |
| Iranian | 160 | 0.890 | 0.110 | 0.903 | 0.097 | ¹⁴ |
| Spanish | 200 | 0.880 | 0.120 | 0.938 | 0.062 | ¹¹ |
| Spanish | 1092 | 0.843 | 0.157 | 0.922 | 0.078 | This study |
| Catalonia | 243 | 0.835 | 0.165 | 0.929 | 0.071 | This study |
| Basque Country | 360 | 0.856 | 0.144 | 0.925 | 0.075 | This study |
| Galicia | 290 | 0.840 | 0.160 | 0.917 | 0.083 | This study |
| Central Spain | 199 | 0.842 | 0.158 | 0.917 | 0.083 | This study |

Table 3 CYP2C9 haplotypes found in Galicia population sample

| | 430 C>T | 1075 A>C | -1189 C>T | FRQ |
|----|------------|-------------|--------------|--------|
| H1 | C | A | T | 0.5979 |
| H2 | C | A | C | 0.1676 |
| H3 | T | A | C | 0.1479 |
| H4 | T | A | T | 0.0021 |
| H5 | C | C | C | 0.0552 |

found between a sample from Italy and the United Kingdom (0.00965 ± 0.0028), Germany (0.01840 ± 0.0068), Sweden (0.01325 ± 0.0061) and Turkey (0.01485 ± 0.0039). In the CYP2C9*3 allele frequency comparisons no significant differences were obtained between our samples and all the collected populations ($P > 0.05$), being significant only between Turkey and the United Kingdom (0.00595 ± 0.0030).

Furthermore, $-1189C > T/C430T/A1075C$ haplotype frequency comparisons were performed between Galicia and population samples from France¹⁶ and Spain¹¹ and no significant differences were observed ($P > 0.05$).

Discussion

In this large study, we report allele and genotype frequency data on CYP2C9*2 and *3 altered variants in five different regions from southern Europe. The obtained data show that, as we presumed, in all the sampled regions the frequency of CYP2C9*2 carriers is higher than the carriers of CYP2C9*3, the later having a stronger reduction of the catalytic activity of the enzyme with respect to the wild type.¹⁰

The comparative analysis between our samples and other European populations shows that the frequency distribution of the CYP2C9*2 was slightly heterogeneous, as significant differences were obtained between some of the regions, being quite homogenous in the case of *3 allele.

The genotyping method based on a multiplex PCR and SBE reaction used in Galician sample covered two of the most important genetic variants that alter the CYP2C9 activity and also one SNP at position $-1189C$ of the CYP2C9 promoter region. Using this method, samples could be processed in plates and the final genotypes could be obtained in a short period of time with a cost per genotype lower than that from convectional methods and other commercial assays. Thus, the SnaPshot-based genotyping proved to be robust, accurate, rapid and cost effective, and the results were easy to interpret, which is relevant to facilitate the application of pharmacogenetic data into clinical practice to improve personal drug therapy.

Due to the high linkage disequilibrium observed between the 5'-flanking region SNPs and the two coding CYP2C9 SNPs, C430T and A1075C,²⁴ these CYP2C9 haplotypes detected in the population from Galicia could become useful in pharmacogenetic studies as predictors of the interindividual variability in drug response, not explained just by the presence of the coding polymorphisms. This observation also suggests that the pharmacogenetic response associated to CYP2C9 substrates should be evaluated in future studies using more newly described CYP2C9 SNPs of interest.

Table 4 Exact test *P* values^a between pairs of populations

| | Italy ²¹ | Verona | Spain | Catalonia | Basque Country | Galicia |
|---------------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| CYP2C9*2 | | | | | | |
| Verona | 0.17750 ± 0.086 | | | | | |
| Spain ¹¹ | 0.08920 ± 0.0092 | 0.87835 ± 0.0048 | | | | |
| Catalonia | 0.71555 ± 0.0099 | 0.31925 ± 0.0160 | 0.22610 ± 0.0154 | | | |
| Basque Country | 0.26375 ± 0.0190 | 0.69760 ± 0.0173 | 0.44945 ± 0.0134 | 0.58155 ± 0.0182 | | |
| Galicia | 0.59130 ± 0.0147 | 0.35545 ± 0.0141 | 0.14800 ± 0.0118 | 1.00000 ± 0.0000 | 0.60055 ± 0.0095 | |
| Central Spain | 0.49865 ± 0.0123 | 0.45710 ± 0.0123 | 0.26780 ± 0.0151 | 0.90165 ± 0.0044 | 0.70330 ± 0.0095 | 0.90235 ± 0.0026 |
| CYP2C9*3 | | | | | | |
| Verona | 1.00000 ± 0.000 | | | | | |
| Spain ¹¹ | 0.33090 ± 0.009 | 0.41550 ± 0.013 | | | | |
| Catalonia | 0.47125 ± 0.010 | 0.57470 ± 0.010 | 0.70460 ± 0.007 | | | |
| Basque Country | 0.60590 ± 0.008 | 0.72715 ± 0.012 | 0.60610 ± 0.011 | 0.87565 ± 0.005 | | |
| Galicia | 0.86430 ± 0.004 | 1.00000 ± 0.000 | 0.38215 ± 0.014 | 0.62820 ± 0.009 | 0.78255 ± 0.007 | |
| Central Spain | 1.00000 ± 0.000 | 1.00000 ± 0.000 | 0.31680 ± 0.009 | 0.59850 ± 0.009 | 0.74605 ± 0.006 | 1.00000 ± 0.000 |

^aStatistical significance from *P* ≤ 0.05.

Interethnic differences in frequencies of CYP2C9 variants might be responsible, at least in part, for the variation in drug disposition between main population groups.³ Likewise, particular subpopulations with the same ethnicity could present differences in allele frequencies due to diverse causes. For that reason, it is really relevant to know the prevalence of CYP2C9 polymorphisms in different populations, even those coming from the same ethnic group. Thus, the precise assessment of the allele frequencies could help in future pharmacogenetic studies to optimize therapy with CYP2C9 substrates. However, a representative sample of the studied population, with a significant number of individuals and a clear definition of their origin, is required for the calculation of the allele frequencies.

Our study constitutes a large and robust allele frequency database on CYP2C9 polymorphisms, including representative samples of well-defined regions from northern Spain and Italy, making up one of the most numerous CYP2C9*2 and *3 databases. We observed that above 40% of individuals of our sample are altered metabolizers of the CYP2C9 substrates. This could be very relevant in the use of narrow therapeutic index drugs as oral anticoagulants (warfarin, acenocumarol), oral antidiabetic drugs and some non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs).

Materials and methods

Subjects and samples

The study group consisted of 1240 patients attended in preoperative for trivial surgery of not painful clinical processes in four clinical centres from different regions of Spain: 358 from Basque Country (north-central), 240 from Catalonia (northeast), 190 from Central Spain and 288 from Galicia (northwest), and one centre from Verona (164) in northern Italy (Figure 1). All the samples were gathered between 2003 and 2005 in the following hospitals: Hospital de Galdakao (Basque Country), Hospital Vall d'Hebron de

Barcelona (Catalonia), Hospital Clínico Universitario de Valladolid (Central Spain), Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (Galicia) and Azienda Ospedaliera di Verona (Verona). Patients were selected as control group from a previous pharmacogenetic multicentre study regarding the genetic predisposition to gastrointestinal haemorrhage after NSAIDs use, in which the five sanitary centres have participated. After giving their informed consent, only adult residents in the sanitary area of the participant hospitals, without precedents of neoplasia, cirrhosis or coagulopathies, were included in the study. These individuals were selected to be representative of the population belonging to the sanitary area corresponding to each hospital. The study was approved by the ethical clinic committee of all the hospitals involved in the study.

Each hospital used its own routine DNA extraction method.

Genotyping

Two different methods were used to genotype the variants of the CYP2C9 gene (CYP2C9*2 and CYP2C9*3). (1) The samples from Galicia were genotyped through a multiplex SBE method performed by SNaPshot technology (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), following the conditions described by Mas *et al.*¹¹ The first step consisted of a multiplex PCR which allows the amplification of the fragments including the variants C430T, A1075C and 5'-flanking region -1189C>T. Following that the purified PCR products are used in a multiplex SBE reaction where the detection primers¹¹ annealed adjacent to the SNP position. The allele detection was achieved using ABI 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The GeneMapper ID v3.2 software (Applied Biosystems) was used for the allele assignment. (2) In the remaining population samples, the CYP2C9 polymorphisms were detected by TaqMan Drug Metabolism Genotyping Assays (Applied Biosystems) in a 7900HT Real-Time PCR System (Applied Biosystems). The

allele assignment was performed using the SDS 2.2.2 software (Applied Biosystems).

Statistical analysis

The SNPassoc R package version 2.7²⁵ was used for the estimation of allele and haplotype frequencies and for assessing the deviation from Hardy–Weinberg equilibrium in each population and SNP separately.

Haplotypes were inferred from the information about SNPs by the use of a phase reconstruction method²⁶ and the expectation–maximization algorithm in the Arlequin ver 3.1 package.²⁷

The linkage disequilibrium between each pair of SNPs (C430T, A1075C and 5'–1189C>T) was assessed using also the Arlequin ver 3.1 package²⁷ and expressed in terms of D' , only in the samples from Galicia. Population comparisons were performed by exact test of population differentiation implemented in the same software.²⁷

Conflict of interest

All the authors declared no conflict of interest.

Acknowledgments

This study was supported by grants PI021512, PI021364, PI020661, PI021572 (Health Research Fund, Fondo de Investigación Sanitaria, Spain), SAF2002-04057 (Ministry of Health and Consumer Affairs, Spain), PGIDIT03PXIC20806PN (Xunta de Galicia, Spain) and 02/1572 (Basque Regional Authority, Spain). PSD is supported by the Isidro Parga Pondal program (Plan Galego de Investigación, Desenvolvemento e Innovación Tecnolóxica-INCITE (2006–2010) from Xunta de Galicia, Spain). The Diana Fundación Barrié-USC Research Program (Fundación Pedro Barrié de la Maza) has partially funded this study. We express our gratitude to Enrique Domínguez, Antía Romani Fernández, María Jose López Otero, Alberto Ruano and Juan Miguel Barros Dios from the Santiago de Compostela University Clinical Teaching Hospital, and Elena Ballarín, Xavier Barroso, Cristina Rebordosa, Lourdes Vendrell and Soraya Martín from Hospital Vall d'Hebron of Barcelona. We are also grateful to María Brión and Angel Salgado Barreiro for their help and comments.

References

- Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, McLellan RA. Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci* 1999; **20**: 342–3499.
- Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet* 2000; **356**: 1667–1671.
- Xie HG, Prasad HC, Kim RB, Stein CM. CYP2C9 allelic variants: ethnic distribution and functional significance. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; **54**: 1257–1270.
- Läpple F, von Richter O, Fromm MF, Richter T, Thon KP, Wisser H et al. Differential expression and function of CYP2C isoforms in human intestine and liver. *Pharmacogenetics* 2003; **13**: 565–575.
- Kirchheiner J, Brockmüller J. Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2005; **77**: 1–16.
- Ingelman-Sundberg M, Daly AK, Nebert DW. Human cytochrome P450 allele nomenclature. Available from: URL: http://www.cypalleles.ki.se/CYP_alleles/.
- Ingelman-Sundberg M. The human genome project and novel aspects of cytochrome P450 research. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; **207**: 52–56.
- Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *J Am Med Assoc* 2002; **287**: 1690–1698.
- Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the *in-vitro* and human data. *Pharmacogenetics* 2002; **12**: 251–263.
- Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gómez A, Rodríguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drugs therapies: Pharmacogenetic, pharmacoeconomic and clinical aspects. *Pharmacol Ther* 2007; **116**: 496–526.
- Mas S, Crescenti A, Vidal-Taboada JM, Bergoñón S, Cuevillas F, Laso N et al. Simultaneous genotyping of CYP2C9*2, *3, 5' flanking region (C-1189T) polymorphisms in a Spanish population through a new minisequencing multiplex single-base extension analysis. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; **61**: 635–641.
- Aynacioglu AS, Brockmüller J, Bauer S, Sachse C, Güzelpay P, Ongen Z et al. Frequency of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *Br J Clin Pharmacol* 1999; **48**: 409–415.
- Allabi AC, Gala JL, Desager JP, Heusterspreute M, Horsmans Y. Genetic polymorphisms of CYP2C9 and CYP2C19 in the Beninese and Belgian populations. *Br J Clin Pharmacol* 2003; **56**: 653–657.
- Llerena A, Dorado P, O'Kirwan F, Jepson R, Licinio J, Wong ML. Lower frequency of CYP2C9*2 in Mexican-Americans compared to Spaniards. *Pharmacogenomics J* 2004; **4**: 403–406.
- Vianna-Jorge R, Perini JA, Rondinelli E, Suarez-Kurtz G. CYP2C9 genotypes and the pharmacokinetics of tenoxicam in Brazilians. *Clin Pharmacol Ther* 2004; **76**: 18–26.
- Morin S, Bodin L, Lorient MA, Thijssen HH, Robert A, Strabach S et al. Pharmacogenetics of acenocoumarol pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* 2004; **75**: 403–414.
- Taube J, Halsall D, Baglin T. Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood* 2000; **96**: 1816–1819.
- Van der Weide J, Steijns LS, Van Weelden MJ, de Haan K. The effect genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement. *Pharmacogenetics* 2001; **11**: 287–291.
- Ackermann E, Cascorbi I, Sachse C, Brockmüller J, Mrozikiewicz PM, Roots I. Frequencies and the allelic linkage of CYP2C9 mutations in a German population, and the detection of a C/T mutation in intron 2 [abstract]. *Eur J Clin Pharmacol* 1997; **52**: A71.
- Ozawa S, Shoket B, McDaniel LP, Tang YM, Ambrosone CB, Kostic S et al. Analyses of bronchial bulky DNA adduct levels and CYP2C9, GSTP1 and NQO1 genotypes in a Hungarian study population with pulmonary diseases. *Carcinogenesis* 1999; **20**: 991–995.
- Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, Brancaccio V, Ciampa A, Grandone E et al. Genetic modulation of oral anticoagulation with warfarin. *Thromb Haemost* 2000; **84**: 775–778.
- Yassar Ü, Eliasson E, Dahl ML, Johansson I, Ingelman-Sundberg M, Sjöqvist F. Validation of methods for CYP2C9 genotyping: frequencies of mutant alleles in a Swedish population. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; **254**: 628–631.
- Gaedigk A, Casley WL, Tyndale RF, Sellers EM, Jurima-Romet M, Leeder JS. Cytochrome P4502C9 (CYP2C9) allele frequencies in Canadian Native Indian and Inuit populations. *Can J Physiol Pharmacol* 2001; **79**: 841–847.
- Shintani M, Ieiri I, Inoue K, Mamiya K, Ninomiya H, Tashiro N et al. Genetic polymorphisms functional characterization of the 5'-flanking region of the human CYP2C9 gene: In vitro and in vivo studies. *Clin Pharmacol Ther* 2001; **70**: 175–182.
- González JR, Armengol L, Solé X, Guinó E, Mercader JM, Estivill X et al. SNPassoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics* 2007; **23**: 644–645.
- Stephens M, Donnelly P. A comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am J Hum Genet* 2003; **73**: 1162–1169.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online* 2005; **1**: 47–50.

V. Variantes del *CYP2C9* y riesgo de HGI
asociado al consumo de AINE

Variantes del CYP2C9 y riesgo de HGI asociado al consumo de AINE: un estudio de casos y controles.

Figueiras A, Estany-Gestal A, Aguirre C, Ruiz B, Vidal X, Carvajal A, Salado I, Rodella L, Moretti U, Ibáñez L and in behalf of the EMPHOGEN group. (In press)

RESUMEN

Antecedentes. Las hemorragias gastrointestinales (HGI) asociadas al consumo de antiinflamatorios no esteroideos (AINE), son una de las reacciones adversas a medicamentos más frecuentes y graves. Se han descrito variantes de metabolización lenta en la enzima CYP2C9, que metaboliza la mayoría de los AINE, que podrían incrementar el riesgo de HGI en los consumidores de AINE.

Objetivo. Determinar si la presencia de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en la enzima que metaboliza los AINE, podría incrementar el riesgo de HGI en los individuos expuestos a estos fármacos.

Diseño. Estudio multicéntrico de casos y controles incidentes.

Marco. Cinco hospitales del suroeste de Europa.

Pacientes. Los casos fueron individuos con diagnóstico de HGI y los controles, sujetos candidatos para cirugía de procesos clínicos no dolorosos.

Medidas. Incremento del riesgo de HGI en individuos portadores de *CYP2C9*2* y/o *CYP2C9*3* considerando a su vez, la dosis de AINE consumida.

Resultados. Se estudiaron 581 casos y 1358 controles; el 40,2% de los casos y el 59,1% de los controles eran portadores de alguna de las variantes estudiadas. El análisis por alelos mostró que los OR de HGI en portadores de la *CYP2C9*2* y de la variante salvaje, eran muy similares [7,12 (2,34-21,73) y 6,87 (4,02-11,72), respectivamente] y muy inferiores al hallado para la variante *CYP2C9*3* [OR=19,85 (7,42-53,07)], a partir de 0,25 dosis medias diarias definidas de AINE metabolizado por el CYP2C9. Agrupando a los individuos en portadores y no portadores de la

variante *CYP2C9*3* en sus genotipos, se obtuvieron unos OR de 18,89 (5,79-61,64) para los portadores de la variante y de 7,05 (3,95-12,58) para los no portadores.

Limitaciones. El tamaño de la muestra no fue suficiente para realizar el análisis por genotipos.

Conclusiones. Los portadores de la variante *CYP2C9*3* tienen una predisposición genética a sufrir HGI asociadas al consumo de AINE. Esta predisposición tiene grandes implicaciones clínicas ya que el 14% de la población de origen europeo es portadora de esta variante.

ABSTRACT

Background. Gastrointestinal haemorrhages (GIHs) associated with use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are one of the most frequent and severe adverse drug reactions. Enzyme CYP2C9, which metabolizes most NSAIDs, has slow metabolising variants that could increase the risk of GIH among NSAID users.

Objective. Determine if the presence of the CYP2C9*2 and CYP2C9*3 variants in the enzyme that metabolizes NSAIDs, could increase the risk of GIH among users of these drugs.

Design. A multicenter incident case-control study.

Setting. Five hospitals in south-western Europe.

Patients. Cases were subjects with diagnosis of GIH and controls were candidates for surgery of non-painful processes.

Measures. Increased risk of GIH in CYP2C9*2 and/or CYP2C9*3 carriers, taking into account the dose of NSAID.

Results. 581 cases and 1358 controls were studied; 40.2% of cases and 59.1% of controls carried either or both of the variants studied. Allele analysis showed the ORs of GIH associated with the CYP2C9*2 and wild-type variants to be very similar [7.12 (2.34-21.73) and 6.87 (4.02-11.72), respectively] and lower than those of the CYP2C9*3 variant [OR=19.85 (7.42-53.07)] for mean defined daily doses of NSAIDs metabolized by CYP2C9 exceeding 0.25. Grouping genotypes into carriers and non-carriers of the CYP2C9*3 variant resulted in ORs of 18.89 (5.79-61.64) for carriers and 7.05 (3.95-12.58) for non-carriers.

Limitations. The sample size was not high enough to perform the analysis by genotypes.

Conclusions. Carriers of the *CYP2C9**3 variant have a genetic predisposition to suffer from NSAID-related GIHs. This predisposition has wide-ranging clinical implications, since 14% of the population of European origin carries this variant.

1 Introduction

Interindividual variation in response to drugs is an important problem in clinical practice, which could partially account for treatment failure or the appearance of certain adverse drug reactions (ADRs). It is now known that this variability has an important genetic component¹. The toll that such variation takes in terms of individual suffering, high healthcare costs and even lives, is being increasingly recognised². Gastrointestinal haemorrhages (GIHs) are one of the most frequent and potentially most severe ADRs^{3,4} and, despite the recent decline in incidence, the associated mortality rate remains constant⁵.

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are responsible for over half of all hospital admissions due to GIH⁶. This ADR has a very important idiosyncratic component, which might be accounted for by the existence of functional variants in the gene that codes for enzyme *CYP2C9* (the principal metaboliser of NSAIDs)^{7,8}. Two of these variants have estimated prevalences in the European population of around 14% (*CYP2C9*2*) and 8% (*CYP2C9*3*)^{9,10}. *In vitro* studies indicate that the *CYP2C9*3* variant is less than 5% as efficient as the wild-type enzyme, while *CYP2C9*2* shows about 12% of wild-type activity^{11,12}.

Six studies have been published with the stated objective of assessing the role of *CYP2C9*2* and *CYP2C9*3* variants in increased risk of suffering from NSAID-related GIHs¹³⁻¹⁸. Yet, the results obtained are not consistent, and some of these studies also display methodological limitations in terms of both design and analysis^{19,20}. Accordingly, our aim here is to report the results of the first full case-control study to ascertain whether the presence of the *CYP2C9*2* and/or *CYP2C9*3* variants might modify the risk of suffering from GIHs among NSAID users, taking the dosage consumed into account.

2 Methods

2.1 Study settings and design

An incident case-control study was conducted at hospitals in four cities in northern Spain (Santiago de Compostela, Valladolid, Galdakao and Barcelona) and one in northern Italy (Verona). Patients were recruited from January 2004 to November 2007. These hospitals had a combined catchment population of

1,570,687. This study was approved by the respective ethics committees of the participant hospitals.

2.2 Definition of cases and controls

A *case* (patient with GIH) was defined as any patient over 18 years of age admitted to hospital with primary diagnosis of gastric ulcer, acute lesions of the gastric mucosa or erosive duodenitis, confirmed by endoscopy or surgery. In addition, the case definition was also deemed to include any subject who, albeit not presenting with clinical symptomatology of GIH, had undergone an endoscopy within 48 hours of admission in which signs of recent bleeding were in evidence.

The hospital *controls* (patients without GIH) were recruited in a manner that ensured that they came from the same source population as did the cases²¹. Three controls were selected for each case, matched by sex, age (± 5 years), hospital and point in time (± 3 months, to avoid the influence of the seasonal component of NSAID use). To ensure that controls were recruited independently of their NSAIDs exposure status, they were selected from among patients in preoperative units who were about to undergo minor surgery for non-painful clinical processes not associated with NSAIDs use, such as cataracts, inguinal/umbilical hernias or adenomas of the prostate, among others. The exclusion criteria considered are set out more fully in Figure 1.

All participants were informed as to the nature of the study, with signature of the informed consent form being an indispensable requirement for inclusion in the study.

2.3 Clinical data collection

A comprehensive interview was administered by trained health staff. The following four strategies were pursued to obtain the most complete pharmacological anamnesis possible: (1) subjects were asked direct questions about any drugs (including over-the-counter drugs) that they had taken during the preceding two months, including daily dose and indication; (2) they were also asked about a series of frequent symptoms for which NSAIDs are indicated, and the treatments used to mitigate such symptoms; (3) to facilitate recognition of NSAIDs, subjects were shown a catalogue with prompt-cards of the most popular NSAIDs in each of the study areas. Furthermore, family members were allowed to be present

during and participate in the interview, though only data confirmed by the patients were recorded; and (4) in any case where subjects failed to remember any of the data requested, the interview was repeated at a later date or they were contacted by telephone.

To evaluate NSAID exposure, the following index dates were set: for cases, date of onset of the first signs or symptoms of the disease; and for controls, date of interview. In line with many other studies which analyse the relationship between exposure to NSAIDs and risk of GIH, we considered an aetiological 7-day window, dating from the index date^{18,22}.

2.4 *Helicobacter pylori* determination

Presence of anti-*H.pylori* IgG antibodies was determined in the plasma of participants, using a commercial ELISA kit (Trinity Biotech Captia, Co. Wicklaw, Ireland) in accordance with the manufacturer's instructions. The choice of this method was based on the fact that serological techniques used for *H. Pylori* determination are not affected by the presence of GIH or use of proton pump inhibitors (PPIs)²³. Since the main drawback of serological determination of *Helicobacter pylori* is the possibility of false positives due to old infections, during the interview subjects were asked if they had been treated for *Helicobacter pylori* infection.

2.5 SNP genotyping

Two different methods were used for genotyping participants' *CYP2C9**2 and *CYP2C9**3 variants: (1) in the case of samples from Santiago de Compostela, a multiplex single base extending (SBE) reaction was performed, using SNaPshot technology (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) in accordance with the conditions described by Mas *et al.*²⁴; and (2) in the case of subjects from the four remaining populations, these SNPs were detected, using TaqMan Drug Metabolism Genotyping Assays (Applied Biosystems) with a PCR 7900HT in real time (Applied Biosystems). Allelic detection was performed using the SDS 2.2.2 software programme (Applied Biosystems). Concordance between the two methods was 100%⁹. All determinations were masked.

2.6 Definition of variables

NSAIDs metabolised by enzyme CYP2C9 were deemed to be any NSAID that relied on this enzyme for at least 50% of its biotransformation (NSAIDmC9). Accordingly, we considered celecoxib, diclofenac, ibuprofen, naproxen, aceclofenac, indomethacin, lornoxicam and piroxicam²⁵. These drugs were quantified by calculating the mean defined daily dose (DDD) consumed in the week preceding the index date. The DDD is equivalent to the average daily dose of a drug used for its main indication via a given route of administration²⁶.

To evaluate a possible dose-response effect, three models were considered for three different cut off points (DDDs of 0.25, 0.50 and 0.75), taking into account the mean DDD consumed in the week preceding the index date: (1) NSAIDmC9 non-users; (2) NSAIDmC9 users of the respective DDD cut-off point or less; and (3) NSAIDmC9 users of more than the respective DDD cut off point.

Acetylsalicylic acid was deemed to be an anti-platelet agent in cases where the daily dose was less than 0.125 grams.

The variable, personal history of gastrointestinal disorders, was divided into three categories, namely, 1) none or dyspepsia, 2) ulcer, or 3) bleeding, and was created from each patient's history of ulcer and bleeding. A variable, denominated "data-source", was created on the basis of the identity of the person who answered the questionnaire, i.e., patient or family member/care-giver. Interview reliability, as perceived by the interviewer, was also assessed on a scale of 0 to 10. For statistical analysis purposes, this variable was categorised into quartiles.

2.7 Statistical analysis

Possible bias in the selection of controls was evaluated by reference assessment of the Hardy-Weinberg equilibrium in both variants^{27,28}.

Adjusted odds ratios (ORs) and their 95% confidence intervals (95% CIs) were estimated, using a generalised linear mixed model (GLMM) for dependent binomial-type variables (case or control)^{29,30}. This approach has three advantages over conditional logistic regression, in that it enables: (i) the multicentre nature of the study to be taken into account when the models are being developed; (ii) advantage to be taken of information on strata (each case and its matched control) containing only cases or controls; and, likewise, (iii) advantage to be taken of information on strata in which all members have identical outcome values³⁰.

In the construction of the models, three types of strata were considered in order to establish the effect on individuals. These were: level 1, patients; level 2, cases and matched controls; and level 3, hospitals. The *lmer* function was used for estimation of the models³⁰. The third model was constructed to obtain the risk associated with alleles but did not converge with the GLMM. Hence, as the variability observed in the strata was so low that it could be deemed negligible, generalised estimating equations (GEE) were used³¹.

We also calculated the combined effects of the sum of the separate effects of genetic variants and NSAIDs as a measure of additive interaction (S, (CI 95%)). S has been shown to be the most reliable measure of additive interaction when adjusting for confounding³².

A sensitivity analysis was also performed to assess: (1) possible stratification, by eliminating all subjects who were not of European origin from the analysis; and (2) the influence of different dosage levels, by using the NSAIDmC9 daily defined dose cut-off points of 0.50 and 0.75.

2.8 Role of the funding source

The funding sources of the study were the Health Research Fund (*Fondo de Investigación Sanitaria*) and the Ministry of Health & Consumer Affairs, Spain; the Galician Regional Authority (*Xunta de Galicia*) and the Basque Regional Authority, Spain. The acquisition of the data in the Italian hospital, was supported by Pzifer. The laboratories Novartis, Pfizer and Dr. Esteve supported partially the contracts of the monitors.

The founding sources had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis or interpretation of the data; preparation, review or approval of the manuscript. The translation to the English was compensated with this sources.

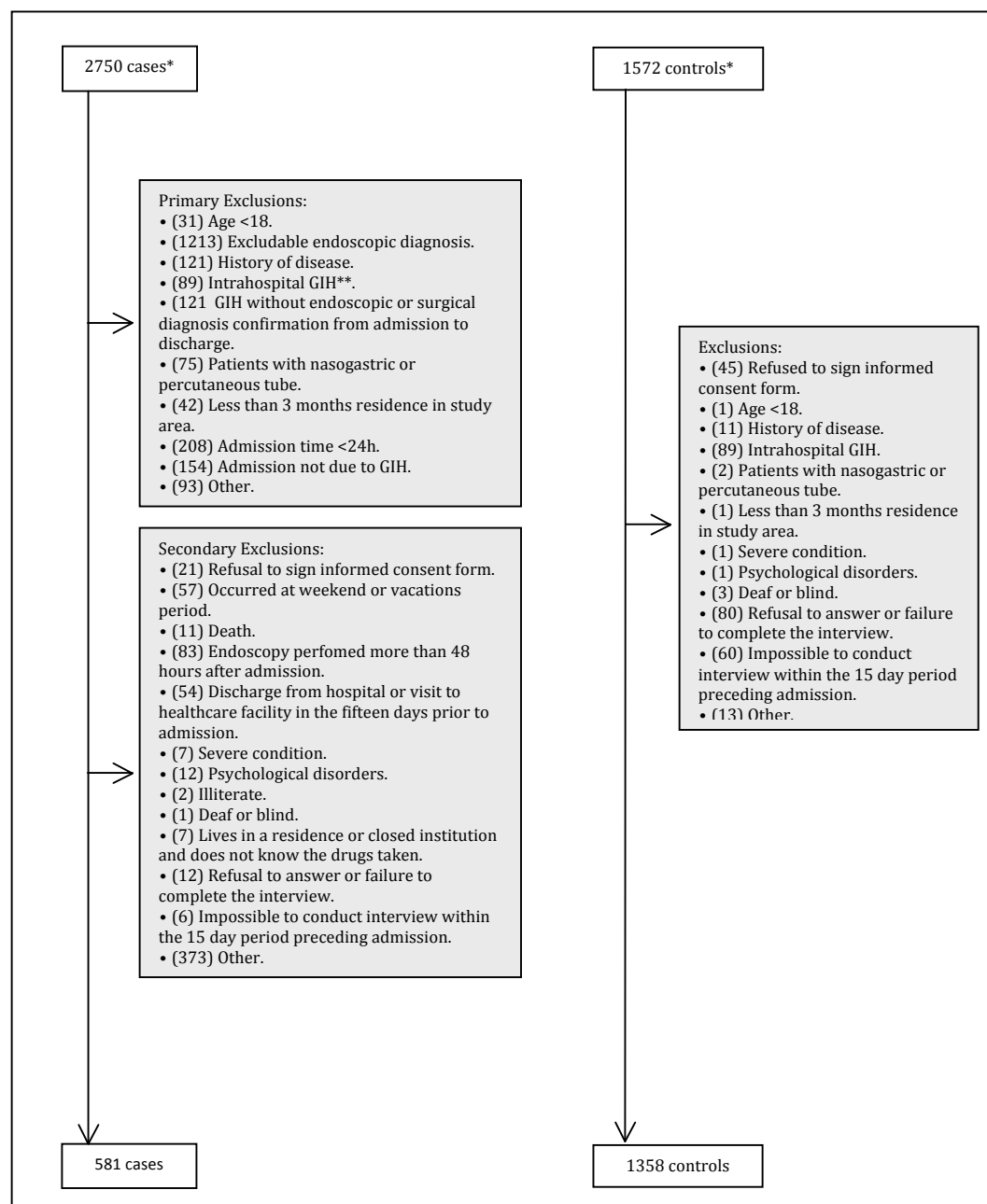
3 Results

3.1 Clinical characteristics of the case-control study participants

Of the 2750 subjects eligible to be cases and the 1572 controls initially selected, a total of 581 cases and 1358 controls finally participated in the study. Figure 1 shows a flow chart with the exclusion criteria, along with the number of

cases and controls excluded. Table 1 shows the demographical and clinical characteristics of cases and controls: after matching, there were no differences between cases and controls in terms of age or sex distribution; over 70% of cases and controls were males; and mean age was around 63 years. All variables included in Table 1 were considered for adjustment in the construction of the multivariate models.

Figure 1. Flow chart of exclusions



*Subjects may have been excluded on the basis of more than one criterion.

**It was considered GIH from 48 hours before hospitalization.

Table 1. Description of patients

| | Cases N (%) | Controls N (%) |
|----------------------------|----------------|-------------------|
| Demographic variables | | |
| Sex (men) | 429 (73.8) | 953 (70.2) |
| Age, mean (SD)* | 62.58 (17.0) | 63.23 (15.7) |
| Ethnicity: | | |
| Caucasian | 577 (99.3) | 1343 (98.89) |
| African | 2 (0.3) | 2 (0.1) |
| Asian | 0 (0) | 8 (0.6) |
| Indetermined | 2 (0.3) | 5 (0.4) |
| Comorbidity | | |
| BMI†, mean (SD)* | 26.57 (4.3) | 26.61 (4.0) |
| Diabetes | 95 (16.4) | 187 (13.8) |
| Cardiovascular disease | 153 (26.7) | 280 (20.7) |
| Arterial hypertension | 227 (39.1) | 509 (37.7) |
| Elevated cholesterol | 174 (30.2) | 381 (28.3) |
| Positive <i>H. pylori</i> | 340 (91.7) | 920 (80.7) |
| History of bleeding | 124 (21.4) | 91 (6.7) |
| History of ulcer | 168 (29.0) | 158 (11.8) |
| Arthrosis | 169 (30.7) | 445 (34.9) |
| Arthritis | 64 (6.2) | 34 (5.1) |
| Consumption of caffeine | 490 (84.3) | 1148 (84.5) |
| Smoking habit: | | |
| Non-smoker/Ex-smoker | 430 (74.0) | 1056 (77.8) |
| Moderate | 68 (11.7) | 152 (11.2) |
| Heavy | 83 (14.3) | 150 (11.0) |
| Alcohol: | | |
| Abstainer | 197 (33.9) | 475 (36.0) |
| Little | 277 (47.7) | 687 (50.3) |
| Moderate | 86 (14.8) | 175 (13.0) |
| Heavy | 21 (3.6) | 24 (1.8) |
| Medication | | |
| Exposure to PPIs‡ | 53 (9.1) | 170 (12.5) |
| Exposure to anti-platelets | 116 (20.0) | 186 (13.7) |
| Exposure to anticoagulants | 43 (7.4) | 63 (4.6) |

*SD= Standard Deviation.

†BMI= Body Mass Index.

‡PPIs= Proton Pump Inhibitors.

3.2 Descriptive analysis of *CYP2C9**2 and *CYP2C9**3 variants, *CYP2C9* genotype and Hardy-Weinberg equilibrium.

The *CYP2C9* genotype was obtained in 91.07% of individuals (507 cases and 1259 controls). Table 2 shows the distribution of *CYP2C9* genotype frequencies for cases and controls. In the control group, the 28.1% of patients carry *CYP2C9**2 variant in their genotypes, and the 17.4% carry the *CYP2C9**3 one. On calculation of the Hardy-Weinberg equilibrium, controls were observed to be in equilibrium in terms of both the *CYP2C9**2 ($p=0.744$) and *CYP2C9**3 variants ($p=0.576$); among cases, the *CYP2C9**3 variant was not in Hardy-Weinberg equilibrium ($p=0.035$).

Table 2. Prevalence of *CYP2C9* genotypes and Hardy-Weinberg equilibrium test

| Genotype | Cases | | Controls | |
|---------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Expected prevalence % | Real prevalence n (%) | Expected prevalence % | Real prevalence n (%) |
| <i>CYP2C9</i> *1/*1 | 58.7 | 303 (59.8) | 59.8 | 754 (59.9) |
| <i>CYP2C9</i> *1/*2 | 21.2 | 105 (20.7) | 23.6 | 296 (23.5) |
| <i>CYP2C9</i> *2/*2 | 1.9 | 11 (2.2) | 2.3 | 31 (2.5) |
| <i>CYP2C9</i> *1/*3 | 14.7 | 66 (13.0) | 11.4 | 143 (11.4) |
| <i>CYP2C9</i> *3/*3 | 0.9 | 9 (1.8) | 0.5 | 8 (0.6) |
| <i>CYP2C9</i> *2/*3 | 2.6 | 13 (2.6) | 2.3 | 27 (2.1) |
| Variants | HWE* (p -value†) | | HWE* (p -value†) | |
| <i>CYP2C9</i> *2 (C430T) | 0.576 | | 0.744 | |
| <i>CYP2C9</i> *3 (A1075C) | 0.035 | | 0.538 | |

*HWE = Hardy-Weinberg Equilibrium.

†p-values of 0.05 or less were deemed statistically significant.

3.3 Influence of the CYP2C9 genetic variants on NSAIDmC9-related gastrointestinal haemorrhages

Table 3 summarises the principal findings of this study. It will be seen that if the NSAIDmC9 dose was not considered, the risk of GIH among carriers of the wild-type genotype [OR= 5.51 (95% CI 3.03-10.03)] was very similar to that of subjects who carried some mutation [6.06 (3.14-11.70)] (model 1, Table 3). When the dose effect was taken into account (model 2, Table 3), however, the risk of GIH in NSAID consumers of DDDs of over 0.25 who were carriers of some variant [12.84 (5.69-28.99)] was observed to be double that of those who were wild-type carriers [6.57 (3.35-12.95)].

Risk of GIH associated with each allele was also analysed by reference to the NSAID dose consumed (model 3, Table 3). For DDDs of NSAIDmC9 in excess of 0.25, the risk of GIH was observed to be very similar for *CYP2C9**2 and wild-type carriers [OR=7.12 (95% CI 2.34-21.73) and 6.87 (4.02-11.72)]. Moreover, the estimated risk was less than half that for *CYP2C9**3-variant carriers (19.85 (7.42-53.07)). In view of these results, patients were grouped into two categories, i.e., carriers and non-carriers of the *CYP2C9**3 variant. As from DDDs of 0.25, the risk of GIH among carriers of genotypes with the *CYP2C9**3 variant was 18.89 (5.79-61.64) versus 7.05 (3.95-12.58) among carriers of genotypes with the *CYP2C9**2 and/or wild-type variants (model 4, Table 3). Despite the fact that synergism did not prove to be statistically significant ($S = 2.75$ (0.71 - 10.61)), this interaction could possibly be additive. All these results were adjusted for the following potential confounders: personal history of gastrointestinal disorders, presence of *Helicobacter pylori*, arthrosis, number of interviews conducted with patient, reliability of the interview, patients exposed to PPIs, anti-platelets, anticoagulants and NSAIDs not metabolised by CYP2C9.

Table 3. Risk of GIH associated with NSAID and presence of variants coding for CYP2C9

| Independent variables* | Cases (%) | Controls (%) | Adjusted OR(95% CI)† | p-value‡ |
|--|------------|--------------|----------------------|----------|
| Model 1: Mutation/non-mutation & presence/absence of NSAIDmC9 | | | | |
| Wild-type genotype | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs =0 | 253 (49.9) | 709 (56.3) | 1.00 (ref) | - |
| NSAIDmC9 DDDs >0 | 50 (9.9) | 45 (3.6) | 5.51 (3.03 – 10.03) | <0.001 |
| Genotypes with mutation: | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs =0 | 171 (33.7) | 469 (37.2) | 1.20 (0.87 – 1.65) | 0.26 |
| NSAIDmC9 DDDs >0 | 33 (6.5) | 36 (2.9) | 6.06 (3.14 – 11.70) | <0.001 |
| Model 2: Mutation/non-mutation & Dose-Response Effects of NSAIDmC9 | | | | |
| Wild-type genotype | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs =0 | 253 (49.9) | 709 (56.3) | 1.00 (ref) | - |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤0.25 | 13 (2.6) | 15 (1.2) | 3.21 (0.99-10.41) | 0.052 |
| NSAID DDDs >0.25 | 37 (7.3) | 30 (2.4) | 6.57 (3.35-12.95) | <0.001 |
| Genotypes with mutation | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs =0 | 171 (33.7) | 469 (37.2) | 1.20 (0.87-1.65) | 0.259 |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤0.25 | 6 (1.2) | 17 (1.3) | 0.85 (0.18-4.15) | 0.84 |
| NSAIDmC9 DDDs >0.25 | 27 (5.3) | 19 (1.5) | 12.84 (5.69-28.99) | <0.001 |
| Model 3: Alleles CYP2C9*1,*2 and *3 & Dose-Response Effects of NSAIDmC9 | | | | |
| <i>CYP2C9*1</i> | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs =0 | - | - | 1.00 (ref) | - |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤0.25 | - | - | 2.06 (0.88-4.83) | 0.098 |
| NSAIDmC9 DDDs >0.25 | - | - | 6.87 (4.02-11.72) | <0.001 |
| <i>CYP2C9*2</i> | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs=0 | - | - | 1.05 (0.77-1.43) | 0.75 |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤0.25 | - | - | 0.56 (0.07-4.25) | 0.57 |
| NSAIDmC9 DDD >0.25 | - | - | 7.12 (2.34-21.73) | 0.001 |
| <i>CYP2C9*3</i> | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs =0 | - | - | 1.54 (1.05-2.27) | 0.028 |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤0.25 | - | - | 0.76 (0.04-13.99) | 0.85 |
| NSAIDmC9 DDDs >0.25 | - | - | 19.85 (7.42-53.07) | <0.001 |
| Model 4§: Genotypes without/with CYP2C9*3 & Dose-Response Effects of NSAIDmC9 | | | | |
| Genotypes without <i>CYP2C9*3</i> | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs =0 | 352 (69.4) | 1013 (80.5) | 1.00 (ref) | - |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤0.25 | 16 (3.2) | 25 (2.0) | 1.88 (0.71-5.00) | 0.207 |
| NSAIDmC9 DDDs >0.25 | 51 (10.0) | 43 (3.4) | 7.05 (3.95-12.58) | <0.001 |
| Genotypes with <i>CYP2C9*3</i> | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs =0 | 72 (14.20) | 165 (13.1) | 1.38 (0.91-2.12) | 0.134 |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤0.25 | 3 (0.6) | 7 (0.6) | 1.46 (0.14-14.81) | 0.75 |
| NSAIDmC9 DDDs >0.25 | 13 (2.6) | 6 (0.5) | 18.89 (5.79-61.64) | <0.001 |

*The independent variables were constructed using the daily defined doses (DDDs) of NSAIDs. The DDD is equivalent to the average daily dose of a drug used for its main indication via a given route of administration. This measurement is used when it is necessary to compare different drugs. †ORs adjusted for the following confounding variables: personal history of gastrointestinal disorders; presence of *Helicobacter pylori*; arthrosis; number of interviews conducted with patient; reliability of the interview; patients exposed to PPIs, anti-platelet, anticoagulants and/or NSAIDs not metabolised by CYP2C9. ‡p-values of 0.05 or less were deemed statistically significant. §These groupings are based on the results obtained in model 3.

3.4 Sensitivity analysis

Owing to the case-control study design³³, our data might also be thought liable to possible stratification bias (as in a case where a study was conducted on a population comprising two or more strata in which allele frequencies and disease rates differed across the strata); nevertheless, the risk of stratification bias in our data was very small or even nil because 99.02% of cases and controls were of European origin, and because very similar results were obtained in the sensitivity analysis for both the total sample and the sample with subjects of European origin (see supplementary material, appendix Table 1). In addition, when we conducted a sensitivity analysis to evaluate the risk of GIH using NSAIDmC9 daily defined dose cut-off points of 0.50 and 0.75, the results yielded did not vary substantially from those reported for a DDD of 0.25 (see supplementary material, appendix Table 2).

4 Discussion

To our knowledge, this is the first study to provide evidence to establish the association between *CYP2C9* variants and elevated risk of GIH among NSAIDmC9 users. For carriers of the *CYP2C9**3 variant, this increase is seen in NSAIDmC9 users taking DDDs of over 0.25. In view of the fact that these drugs are one of the most widely used therapeutic groups worldwide³⁴ and that approximately 14% of the population of European origin carries genotypes with this variant^{9,10}, our findings could enable the risk of GIH in this population to be substantially reduced.

Despite the fact that a total of six papers have been published on this topic¹³⁻¹⁸, no clear conclusions can be drawn because the papers' respective reports of this association are contradictory, in that three find no such association^{13,14,16}, two link it to the presence of the *CYP2C9**3 variant^{15,18}, and the sixth associates it with the joint presence of the *CYP2C9**2+*CYP2C8**3 variants¹⁷. These inconsistencies may be due to important methodological limitations¹⁹⁻²⁰. In our study, patients who carried the *CYP2C9**3 variant and consumed a mean DDD of NSAIDmC9 in excess of 0.25 were observed to have a risk of suffering from GIHs that was over 2.5 fold that of subjects who consumed the same dose but were non-carriers of this variant. This finding was made possible because, thanks to the study design selected, the sample size used and the statistical techniques performed, this was the first time that the effect of each of the alleles could be analysed for three different dose strata.

Since the ORs found for *CYP2C9**2-variant and wild-type carriers taking DDDs of NSAIDmC9 in excess of 0.25 were very similar (model 3, Table 3), it was possible for subjects to be grouped into carriers or non-carriers of the *CYP2C9**3 variant. Important differences were detected, in that the risk of GIH was 18.87 (95% CI: 5.76-61.81) for patients with genotypes carrying the *CYP2C9**3 variant and 7.07 (3.06-12.62) for non-carriers (model 4, Table 3), which yielded a synergism index of 2.75 (0.71 - 10.61). Our finding of an increased risk of NSAIDmC9 -related GIHs in *CYP2C9**3- but not in *CYP2C9**2-carriers is analogous to the results of studies undertaken with other substrata of drugs which have a narrow therapeutic index and are also metabolised by CYP2C9, such as warfarin³⁵, phenprocoumon³⁶ or phenytoin³⁷. Our results are also coherent with *in vitro* studies which report that the metabolising capacity of the *CYP2C9**2 variant is more than twice that of the *CYP2C9**3 variant⁸.

This is the first study to analyse the role of enzyme CYP2C9 in risk of GIH, taking the NSAIDmC9 dose consumed into account. We observed that at low doses (DDDs < 0.25), the presence of the *CYP2C9**2 and *CYP2C9**3 variants did not increase the risk of GIH with respect to non-carriers but that as from a DDD of 0.25, there was an important increase in risk among carriers of allele *CYP2C9**3. This finding is coherent with the dose-dependent nature of NSAID-induced gastrointestinal damage⁶, and with the increase in plasma NSAID levels among carriers of slow metabolising variants in the case of CYP2C9⁸. Accordingly, at low doses there would be no increase in risk of suffering from GIHs, regardless of the presence of the variants studied. As from a mean DDD of 0.25, however, the presence of the *CYP2C9**3 variant does play a relevant role in the increase in risk.

It would be ideal to calculate the ORs for each genotype and for each DDD of NSAIDmC9, but to get the statistical powerful to perform the analysis is necessary a sample size too high. Although this sample size was the largest of any study previously published on the topic, to be able to carry out the analysis we had to perform it with a breakdown by individuals carrying the *CYP2C9**3 variant in their genotypes, and with a cut off point of 0.25 DDDs. The sample size was neither high enough to demonstrate that the additive interaction between the *CYP2C9**3 variant and a DDD of NSAIDmC9 >0.25 was statistically significant.

Our results indicate that the risk of GIH could be considerably reduced among subjects with a mean NSAIDmC9 consumption equivalent to a DDD of 0.25

or more. To this end, it would suffice for *CYP2C9* genotype determination to be made prior to chronic treatment with any NSAID metabolised by *CYP2C9*, and, in the event that a patient proved to be a carrier of the *CYP2C9**3 variant, the dose would then be gradually adjusted to decrease the risk of GIH while maintaining the therapeutic effect, or alternatively, an NSAID metabolised by *CYP2C9* could be replaced by another (such as ketoprofen or tenoxicam)³⁸ that was metabolised via another pathway. Bearing in mind the elevated incidence of NSAID-related GIHs and their high health and social cost, cost-effectiveness studies would have to be conducted before such a measure were implemented.

5 Acknowledgements

The authors would like to thank Michael Benedict for his help with the English version of this paper.

6 Appendix

The following are participants in the EMPOGEN project (Multicentre Genetic Polymorphism Study): A. Figueiras, A. Estany-Gestal, A. Salgado-Barreira, P. Sánchez-Diz, M. Piñeiro-Lamas, P. López-Vázquez, JM. Barros-Dios, E. Domínguez, A. Ruano-Raviña, JJ.Gestal-Otero, A. Romaní-Otero, MJ.López-Otero (Santiago de Compostela, Spain. Coordination group); V. Orive, P. Ruiz, J. Cabriada, MM. de Pancorbo, (Basque Country, Spain); J. Dot, E. Ballarín, C. Rebordosa, L. Vendrell, S. Martín (Barcelona, Spain); M. Sáinz, LH. Martín-Arias, L. Orbañanos, S. Ortega (Valladolid, Spain); and A. Conforti, R. Leone, M. Passiu (Verona, Italy).

References

1. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999;286:487-91.
2. Meyer UA. Pharmacogenetics - five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nat Rev Genet* 2004;5:669-76.
3. Pirmohamed M, James S, Meakin S. Adverse drug reaction as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18820 patients. *BMJ* 2004;329:15-9.
4. Wolfe M, Lichtenstein DR, Singh G. Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *N Engl J Med* 1999; 340: 1888-99.
5. Sadic J, Borgstrom A, Manjer J, Toth E, Lindell G. Bleeding peptic ulcer - time trends in incidence, treatment and mortality in Sweden. *Aliment PharmacolTher* 2009;30:392-8.
6. Laporte JR, Ibáñez L, Vidal X, Vendrell L, Leone R. Upper gastrointestinal bleeding associated with the use of NSAIDs: newer versus older agents. *Drug Saf* 2004;27:411-20.
7. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects. *PharmacolTher* 2007;116:496-526.
8. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects. *PharmacolTher* 2007;116:496-526.
9. Sánchez-Diz P, Estany-Gestal A, Aguirre C, et al. Prevalence of CYP2C9 polymorphisms in the south of Europe. *Pharmacogenomics J* 2009;9:306-10.
10. Xie HG, Prasad HC, Kim RB, et al. CYP2C9 allelic variants: ethnic distribution and functional significance. *Advanced Drug Delivered Reviews* 2002;54:1257-70.
11. Wang L, McLeod HL, Weinshilboum RM. Genomics and drug response. *N Engl J Med* 2011 24;364:1144-53.

12. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complication. *Lancet* 1999;353:717-9.
13. Martin JH, Begg EJ, Kennedy MA, et al. Is cytochrome P450 2C9 genotype associated with NSAID ulceration? *Br J Clin Pharmacol* 2001;51:627-30.
14. Vonkeman HE, van de Laar M, van der Palen J, et al. Allele variants of the cytochrome P450 2C9 genotype in white subjects from The Netherlands with serious gastroduodenal ulcers attributable to the use of NSAIDs. *Clin Ther* 2006;28:1670-6.
15. Pilotto A, Seripa D, Franceschi M, et al. Genetic susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drug-related gastroduodenal bleeding: role of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Gastroenterology* 2007;133:465-71.
16. Ma J, Yang XY, Qiao L, et al. CYP2C9 polymorphism in non-steroidal anti-inflammatory drugs-induced gastropathy. *J Dig Dis* 2008;9:79-83.
17. Blanco G, Martínez M, Ladero JM, et al. Interaction of CYP2C8 and CYP2C9 genotypes modifies the risk for nonsteroidal anti-inflammatory drugs-related acute gastrointestinal bleeding. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18:37-43.
18. Carbonell N, Verstuyft C, Massard J, Letierce A, Cellier C, Deforges L, Saliba F, Delchier JC, Becquemont L. CYP2C9*3 loss-of-function allele is associated with acute upper gastrointestinal bleeding related to the use of NSAIDs other than aspirin. *Clin Pharmacol Ther* 2010;87:693-8.
19. Estany-Gestal A, Salgado-Barreira A, Sánchez-Diz P, Figueiras A. Influence of CYP2C9 genetic variants on gastrointestinal bleeding associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs: a systematic critical review. *Pharmacogenet Genomics* 2011;21:357-64.
20. Musumba C, Pritchard DM, Pirmohamed M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:517-31.
21. Rothman KJ, Greenland S. Case-control studies. In: Rothman KJ, Greenland S, Lash TL. *Modern Epidemiology*. 2nd ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 1998:p100.

22. Laporte JR, Carné X, Vidal X, Moreno V, Juan J. Upper gastrointestinal bleeding in relation to previous use of analgesics and non-steroidal anti-inflammatory drugs. Catalan Countries Study on Upper Gastrointestinal Bleeding. *Lancet* 1991; 337:85-9.
23. Gisbert JP, Abaira V. Accuracy of Helicobacter pylori diagnostic tests in patients with bleeding peptic ulcer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2006;101:848-63.
24. Mas S, Crescenti A, Vidal-Taboada JM, et al. Simultaneous genotyping of CYP2C9*2, *3 and 5' flanking region (C-1189T) polymorphisms in a Spanish population through a new minisequencing multiplex single-base extension analysis. *Eur J Clin Pharmacol* 2005;61:635-41.
25. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in vitro and human data. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 251-263.
26. Definition and general considerations of DDD [on line], last updated December 17, 2009 [cited December 29, 2011] WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology Norwegian Institute of Public Health Available at: http://www.whocc.no/ddd/definition_and_general_considera/
27. Chen J, Chatterjee N. Exploiting Hardy-Weinberg equilibrium for efficient screening of single SNP associations from case-control studies. *Hum Hered* 2007;63:196-204.
28. González JR, Armengol L, Guinó E, Solé X, Moreno V. SNPassoc: SNPs-based whole genome association studies.. R package version 1.6-0. 2009, URL <http://CRAN.R-project.org/package=SNPassoc>.
29. Other applications of mixed models. In: Brown H, Prescott R. *Applied Mixed Models in Medicine*. 2nd ed. New Jersey: John Wiley and Sons, 2006:p320-1.
30. Bates D, Maechler M. lme4: linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.999375-37. 2010, URL <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>.
31. Halekoh U, Højsgaard S, Yan J. The R Package geepack for Generalized Estimating Equations. *J Stat Soft* 2006;15:1-11.

32. Skron dal A. Interaction as departure from additivity in case-control studies: a cautionary note. *Am J Epidemiol* 2003; 158: 251-258.
33. Cardon LR, Palmer LJ. Population stratification and spurious allelic association. *Lancet* 2003; 361: 598-604.
34. Singh G. Gastrointestinal complications of prescription and over-the-counter nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a view from the ARAMIS database. Arthritis, Rheumatism and Aging Medical Information System. *Am J Ther* 2000; 7: 115-21.
35. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA* 2002; 287: 1690-8.
36. Puehringer H, Loreth RM, Klose G, et al. VKORC1 -1639G>A and CYP2C9*3 are the major genetic predictors of phenprocoumon dose requirement *Eur J Clin Pharmacol* 2010; 66: 591-8.
37. Aynacoiglu AS, Brockmöller J, Bauer S, et al. Frequency of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 48: 409-15.
38. Agúndez JAG, García-Martín E, Martínez C. Genetically based impairment in CYP2C8- and CYP2C9-dependent NSAID metabolism as a risk factor for gastrointestinal bleeding: Is a combination of pharmacogenomics and metabolomics required to improve personalized medicine? *Exper Opin Drug Metabol Toxicol* 2009; 5: 1-104.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Appendix Table 1. Results of the sensibility analysis with the European population

| Independent variables* | Cases (%) | Controls (%) | Adjusted OR (95%CI)† | p-value‡ |
|------------------------------------|------------|--------------|-------------------------|----------|
| Genotypes without <i>CYP2C9</i> *3 | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs = 0 | 349 (69.4) | 1001 (80.4) | 1.00 | - |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤ 0.25 | 15 (3.0) | 25 (2.0) | 1.77 (0.65-4.8) | 0.27 |
| NSAIDmC9 DDDs > 0.25 | 51 (10.1) | 42 (3.4) | 7.48 (4.17-13.4) | <0.001 |
| Genotypes with <i>CYP2C9</i> *3 | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs = 0 | 72 (14.3) | 164 (13.2) | 1.34 (0.90-2.1) | 0.142 |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤ 0.25 | 3 (0.6) | 7 (0.6) | 1.42 (0.14-14.5) | 0.77 |
| NSAIDmC9 DDDs > 0.25 | 13 (2.6) | 6 (0.5) | 18.97 (5.80-61.1) | <0.001 |

*The independent variables were constructed using the daily defined doses (DDDs) of NSAIDs. The DDD is equivalent to the average daily dose of a drug used for its main indication via a given route of administration. This measurement is used when it is necessary to compare different drugs. †ORs adjusted for the following confounding variables: personal history of gastrointestinal disorders; presence of *Helicobacter pylori*; arthrosis; number of interviews conducted with patient; reliability of the interview; patients exposed to PPIs, anti-platelets and anticoagulants and/or NSAIDs not metabolized by CYP2C9. ‡p-values of 0.05 or less were deemed statistically significant.

Appendix Table 2. Results of the sensibility analysis performed with a DDD of NSAID of 0.50 and 0.75

| Independent variables* | Cases (%) | Controls (%) | Adjusted OR* (95%CI)† | p-value‡ |
|---|-------------|--------------|-----------------------|----------|
| Genotypes without/with CYP2C9*3 & Dose-Response Effects of 0.50 DDD NSAIDmC9 | | | | |
| Genotypes without <i>CYP2C9*3</i> | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs = 0 | 352 (69.4) | 1013 (80.5) | 1.00 (ref) | - |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤ 0.50 | 33 (6.5) | 43 (3.4) | 3.29 (1.72-6.29) | <0.001 |
| NSAIDmC9 DDDs > 0.50 | 34 (6.7) | 25 (2.0) | 8.75 (4.15-18.46) | <0.001 |
| Genotypes with <i>CYP2C9*3</i> | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs = 0 | 72 (14.2) | 165 (13.1) | 1.38 (0.90-2.11) | 0.13 |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤ 0.50 | 7 (1.4) | 7 (0.6) | 3.94 (0.86-17.99) | 0.077 |
| NSAIDmC9 DDDs > 0.50 | 9 (1.8) | 6 (0.5) | 16.95 (5.00-57.50) | <0.001 |
| Genotypes without/with CYP2C9*3 & Dose-Response Effects of 0.75 DDD NSAIDmC9 | | | | |
| Genotypes without <i>CYP2C9*3</i> | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs = 0 | 352 (69.43) | 1013 (80.46) | 1.00 (ref) | - |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤ 0.75 | 43 (8.48) | 46 (3.65) | 3.83 (2.11-6.95) | <0.001 |
| NSAID > 0.75 | 24 (4.73) | 22 (1.75) | 8.68 (3.72-20.25) | <0.001 |
| Genotypes with <i>CYP2C9*3</i> | | | | |
| NSAIDmC9 DDDs = 0 | 72 (14.20) | 165 (13.11) | 1.38 (0.90-2.11) | 1.135 |
| 0 < NSAIDmC9 DDDs ≤ 0.75 | 8 (1.58) | 7 (0.56) | 5.29 (1.29-21.62) | 0.020 |
| NSAIDmC9 DDDs > 0.75 | 8 (1.58) | 6 (0.48) | 15.31 (4.36-53.79) | <0.001 |

*The independent variables were constructed using the daily defined doses (DDDs) of NSAIDs. The DDD is equivalent to the average daily dose of a drug used for its main indication via a given route of administration. This measurement is used when it is necessary to compare different drugs.

†ORs adjusted for the following confounding variables: personal history of gastrointestinal disorders; presence of *Helicobacter pylori*; arthrosis; number of interviews conducted with patient; reliability of the interview; patients exposed to PPIs, anti-platelets and anticoagulants and/or NSAIDs not metabolized by CYP2C9.

‡p-values of 0.05 or less were deemed statistically significant.

VI. Discusión

Dar sentido a la evolución en la asociación genética es crucial para avanzar en el conocimiento de muchas enfermedades y para controlar de forma más eficaz los efectos farmacológicos de los tratamientos y de la aparición de RAM. Sin embargo, a menudo es complicado integrar dichas asociaciones en la práctica clínica y tenerlas en cuenta en salud pública, ya que la aparición de información es demasiado rápida y, en ocasiones, presenta limitaciones que disminuyen su nivel de evidencia. Así, hemos constatado que los estudios previos sobre la asociación entre la presencia de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* y el riesgo de HGI en individuos tratados con AINE, presentan una serie de limitaciones metodológicas que dieron lugar a un nivel de evidencia que no permite considerar la aplicación clínica de los resultados de estos trabajos.

Como consecuencia del auge de la farmacogenética, en los últimos años se ha incrementado considerablemente el número de estudios de casos y controles, porque es un diseño muy adecuado para estudiar exposiciones estables en el

tiempo, como lo son las variantes genéticas, y su comprobación supone una combinación de pruebas clínicas y de laboratorio que hacen prohibitivos los estudios de cohortes. Es también una de las formas más eficaces para identificar factores de riesgo de enfermedades de baja incidencia relativa, como es el caso de las hemorragias gastrointestinales. De esta forma, en la segunda etapa de este trabajo se llevó a cabo un estudio farmacogenético de casos y controles para determinar la asociación entre la presencia de estas variantes y el incremento en el riesgo de HGI causada por AINE. Las principales diferencias entre este trabajo y los previos radican en que, por un lado, nuestro diseño incluye individuos no expuestos a AINE tanto en el grupo de los casos como en el de los controles. Este hecho nos ha permitido analizar la interacción gen-ambiente, donde por ambiente se entiende cualquier exposición adquirida (en este caso, exposición al consumo de AINE). Por otro lado, se tuvo en cuenta el efecto de la dosis, debido a la naturaleza dosis-dependiente de las RAM gastrointestinales de los AINE.

El análisis del grupo control nos ha permitido conocer la frecuencia de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en la población del suroeste de Europa. Las frecuencias calculadas son coherentes con las halladas en estudios previos realizados con otras poblaciones de origen europeo, perfilándose la existencia de un gradiente creciente en las frecuencias de ambas variantes del norte al sur del continente. El interés de conocer la frecuencia de estas variantes en las diferentes poblaciones, e incluso en sub-poblaciones, reside en que se asocian con una disminución de la actividad de la enzima CYP2C9, por lo que podrían estar relacionadas con la variabilidad interindividual en la respuesta farmacológica a los medicamentos metabolizados por esta enzima.

En las muestras de Santiago de Compostela, también se determinó la frecuencia de un tercer SNP (C-1189T), localizado en la región flanqueante 5' del gen. Se había descrito que su frecuencia era elevada en diferentes poblaciones, y que los polimorfismos de la región 5' podrían tener alguna influencia en la actividad enzimática. Además, su análisis apenas suponía un aumento del coste del genotipado. Sin embargo, no se incluyó en los análisis de riesgo, algo que sería interesante hacer en un futuro. Las muestras de este centro se tiparon con tecnología SNaPshot (PCR Multiplex y reacción de extensión en una sola base (*Single base Extensión* - *SBE*)). Esta técnica permite obtener resultados de forma rápida y con una fiabilidad elevada, además son fácilmente interpretables. Al

emplear una PCR Multiplex, es posible añadir más SNPs sin apenas incrementar el precio final del análisis y la infraestructura que requiere es habitual en los laboratorios clínicos. La buena relación coste-efectividad de esta técnica, facilitaría la consideración de datos farmacogenéticos del paciente en la práctica clínica para la mejora de los tratamientos farmacológicos.

Los modelos presentados son el resultado de un análisis pormenorizado de nuestros datos, con los que se han obtenido tres hallazgos relevantes. Por un lado, la importancia del efecto de la dosis de AINE. Si no se tiene en cuenta la dosis no es posible detectar si se produce un incremento del riesgo de HGI en los portadores de alguna de las variantes [OR=6,06(3,14-11,70)] con respecto a los no portadores [OR=12,84(5,69-28,99)]. En cambio, si se considera la dosis de AINE, a partir de un consumo bajo (0,25 DDD) el riesgo de HGI es casi el doble para los portadores de alguna de las variantes [OR=12,84(5,69-28,99)] que para los no portadores [OR=6,57(3,35-12,95)]. Este hallazgo es coherente con la naturaleza dosis-dependiente de las RAM gastrointestinales de los AINE, ya que a dosis bajas, el incremento de los niveles plasmáticos de AINE debido a la presencia de estas variantes, no es suficiente para producir la sobredosis relativa de AINE que incrementaría el riesgo de HGI.

Al realizar el análisis por alelos, encontramos que la variante *CYP2C9*2* no incrementa de forma significativa el riesgo de HGI. Su patrón de comportamiento es muy similar al de la variante salvaje [OR= 7,12(2,34-21,73) y OR= 6,87(4,02-11,72), respectivamente] y muy inferior al hallado para la variante *CYP2C9*3* [19,85 (7,42-53,07)]. Este dato es consistente con los resultados de estudios previos realizados con otros sustratos del *CYP2C9*, como la warfarina o la fenitoína, que también atribuyen a la variante *CYP2C9*3* un incremento en el riesgo de RAM.

A la vista de este resultado los individuos fueron agrupados en portadores y no portadores de la variante *CYP2C9*3*. Los resultados obtenidos en este modelo indican que los individuos que portan genotipos con la variante *CYP2C9*3*, tienen un riesgo de HGI más de 2,5 veces superior al riesgo hallado para los no portadores [OR= 18,89(5,79-61,64) y OR= 7,05(3,95-12,58), respectivamente]. Este incremento del riesgo se detecta a partir del consumo de dosis bajas de AINE (0,25 DDD), y se mantiene independientemente de la cantidad de AINE consumida, ya que los resultados obtenidos cuando el punto de corte se sitúa en, son muy

similares a los obtenidos en los análisis de sensibilidad, realizados con puntos de corte en 0,50 () y 0,75 DDD ().

El análisis del riesgo de HGI se ha realizado con modelos lineales mixtos generalizados, porque es un método que permite controlar la dependencia entre las observaciones. La potencia estadística de esta técnica es muy elevada, por lo que el tamaño de la muestra de estudio no fue suficiente para calcular el riesgo de hemorragia por genotipos, ni para determinar si la interacción entre el consumo de AINE y presencia de la variante *CYP2C9*3* es significativa, a pesar de el tamaño de la muestra de este trabajo es muy superior a los de los estudios previos.

Implicaciones

Nuestros resultados han demostrado que a partir un consumo de dosis bajas de AINE, los individuos portadores de genotipos con la variante *CYP2C9*3* tienen un riesgo superior al doble de sufrir HGI con respecto a los no portadores. La relevancia clínica de estos hallazgos radica en que los AINE son uno de los grupos terapéuticos más empleados en todo el mundo y que aproximadamente el 14% de la población europea porta genotipos con esta variante.

Para prevenir los riesgos gástricos asociados al consumo de AINE es habitual prescribir inhibidores de la bomba de protones (IBP). Sin embargo, por un lado, el uso de IBP se ha asociado con un incremento del riesgo de fracturas óseas (Laine 2009), y por otro, se ha determinado que podrían enmascarar los trastornos digestivos iniciales que causan los AINE, de forma que se produciría un incremento de trastornos digestivos más graves. Por lo tanto, el consumo de IBP podría aumentar la morbi-mortalidad de los pacientes, además de incrementar notablemente el coste de los tratamientos.

La determinación de la variante *CYP2C9*3* en los individuos a los que se les vaya a prescribir un AINE metabolizado por el *CYP2C9*, podría convertirse en una herramienta clínica importante para disminuir el riesgo de sufrir esta RAM gastrointestinal. Así, a los pacientes que resultasen portadores de esta variante se les podría disminuir la dosis de AINE y por tanto el riesgo de hemorragia. Esta medida, podría ser medida coste-efectiva, ya que el coste de la determinación de la variante no supera los 0,30 euros por paciente, y además, se ahorraría el tratamiento preventivo con IBP y se disminuirían los gastos, tanto directos como

indirectos, derivados del tratamiento de las HGI. También se podría optar por una alternativa terapéutica consistente en prescribir un AINE que se metabolice de forma mayoritaria en una vía diferente a la del CYP2C9 (como el tenoxicam o el ketoprofeno).

Futuro

Los trabajos presentados en esta tesis no pretenden mostrar un trabajo que ya ha concluido, sino que la labor de investigación continúa. Por un lado, se pretende determinar si el genotipado de la variante *CYP2C9*3* es una medida coste-efectiva. También se continuará con el estudio de los factores de riesgo de hemorragias gastrointestinales asociadas a la automedicación con AINE, ya que son uno de los grupos terapéuticos más asociados a automedicación.

Por otro lado, se acometerá un nuevo proyecto con el objetivo de determinar el riesgo de HGI en individuos consumidores de aspirina a dosis bajas (como antiagregante). Para ello, se determinarán los polimorfismos de interés en población europea presentes en los genes que codifican para las enzimas COX-1 (principal enzima implicada en el mecanismo de acción del ácido acetilsalicílico) y SNOe (enzima que sintetiza el óxido nítrico a nivel endotelial, sustancia que a nivel gástrico tiene un papel protector de la mucosa y antiagregante) y se calculará el incremento del riesgo de HGI en los individuos consumidores de AAS a dosis antiagregantes y portadores de estos polimorfismos. Finalmente, como objetivo secundario, con este nuevo proyecto se pretende incrementar el tamaño de muestra del estudio actual para poder determinar el riesgo de HGI causada por AINE para cada genotipo del *CYP2C9*.

VII. Conclusiones

Primera

Los artículos publicados con el objetivo de evaluar la influencia de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en HGI asociadas al consumo de AINE, tienen limitaciones metodológicas que impiden establecer la existencia de un incremento en el riesgo de hemorragia en presencia de estas variantes, o determinar si se produce una interacción entre la exposición a estos medicamentos y la presencia de estas variantes.

Segunda

Las frecuencias alélicas de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en la población del sur de Europa son relativamente elevadas. El cálculo de las frecuencias genotípicas reveló que más del 40% de los individuos de esta población es portador alguna de las variantes de metabolización lenta del CYP2C9.

Tercera

Es necesario considerar la dosis de AINE para detectar incremento del riesgo de HGI en los individuos portadores de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*.

Cuarta

Con un consumo de AINE a dosis bajas (hasta 0,25 DDD), la presencia de las variantes estudiadas no incrementa el riesgo de HGI.

Quinta

El riesgo de HGI asociado a la variante *CYP2C9*2* es muy similar al hallado para la variante salvaje. Este patrón de comportamiento es independiente de la cantidad de AINE consumido, ya que los resultados obtenidos con el punto de corte en 0,25 DDD, son muy similares a los obtenidos en los análisis de sensibilidad realizados con puntos de corte en 0,50 y 0,75 DDD.

Sexta

Se ha encontrado una predisposición genética a padecer HGI al consumir AINE en los individuos portadores de genotipos con *CYP2C9*3*; el riesgo de HGI en los individuos portadores de esta variante es más de 2,5 superior a los no portadores, y se manifiesta a partir de un consumo de 0,25 DDD de AINE.

Bibliografía

- Ackermann E, Cascorbi I, Sachse C *et al.*** Frequencies and the allelic linkage of CYP2C9 mutations in a German population, and the detection of a C/T mutation in intron 2 [abstract]. *Eur J Clin Pharmacol* 1997; **52**: A71.
- Agúndez JA, Martínez C, García-Martín E, Ladero JM.** Cytochrome P450 CYP2C9 polymorphism and NSAID-related acute gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2007; **133**: 2071-2.
- Agúndez JAG, García-Martín E and Martínez C.** Genetically based impairment in CYP2C8- and CYP2C9-dependent NSAID metabolism as a risk factor for gastrointestinal bleeding: is a combination of pharmacogenomics and metabolics required to improve personalized medicine? *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009; **5**: 1-14.
- Ahlbom A and Alfredsson L.** Interaction: a word with two meanings creates confusion. *Eur J Epidemiol* 2005; **20**: 563-4.

- Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK.** Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 1999; **353**: 717-9.
- Albert PS, Ratnasighe D, Tangrea J and Wacholder S.** Limitations of the case-only design for identifying gene-environment interactions. *Am J Epidemiol* 2001; **154**: 687- 93.
- Ali ZK, Kim RJ, Ysla FM.** CYP2C9 polymorphisms: considerations in NSAID therapy. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2009; **12**: 108-14.
- Allabi AC, Gala JL, Desager JP et al.** Genetic polymorphisms of CYP2C9 and CYP2C19 in the Beninese and Belgian populations. *Br J Clin Pharmacol* 2003; **56**: 653-57.
- Andrieu N and Goldstein AM.** Epidemiologic and genetic approaches in the study of gene-environment interaction: an overview of available methods. *Epidemiol Rev* 1988; **20**: 137-47.
- Aynacioglu AS, Brockmöller J, Bauer S et al.** Frequency of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *Br J Clin Pharmacol* 1999; **48**: 409-15.
- Baron JA, Sandler RS, Bresalier RS, Lanus A, Morton DG, Riddell R et al.** Cardiovascular events associated with rofecoxib: final analysis of the APPROVe trial. *Lancet* 2008; **372**: 1756-64.
- Bates D, Maechler M.** lme4: linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.999375-37. 2010, URL <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>.
- Bayer Hispania Division Consumer Care.** La historia de aspirina [monografía en internet]; 2011 [acceso 26 de enero de 2012]. Disponible en: http://www.aspirina.com/scripts/pages/es/historia/la_historia_de_aspirina/index.php.
- Bellis M.** History of Aspirin. [Internet] 1997. [acceso 25 de enero de 2012] About.com: Inventors. Consultado el 21 de noviembre de 2008. (1997). Disponible en URL: <http://inventors.about.com/library/inventors/blaspirin.htm>
- Blanco G, Martínez C, Ladero JM, García-Martín E, Taxonera C, Gamito FC et al.** Interaction of CYP2C8 and CYP2C9 genotypes modifies the risk for

- nonsteroidal anti-inflammatory drugs-related acute gastrointestinal bleeding. *Pharmacogenet Genomics* 2008; **18**: 37-43.
- Boers M.** Seminal pharmaceutical trials: maintaining masking in analysis. *Lancet* 2002; **360**: 100-1.
- Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B et al.** Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *NEJM* 2000; **343**: 1520-8.
- Bon MA, JasenSteur EN, de Vos RA and Vermes I.** Neurogenetic correlates of Parkinson's disease: apolipoprotein-E and cytochrome P450 2D6 genetic polymorphism. *Neurosci Lett* 1999; **266**: 149-51.
- Carbonell N, Vertuyft C, Massard J, Letierce A, Cellier C, Deforges L et al.** *CYP2C9*3* loss-of-function allele is associated with acute upper gastrointestinal bleeding related to the use of NSAIDs other than aspirin. *Clin Pharm Ther* 2010; **87**: 693-8.
- Cardon LR, Palmer LJ.** Population stratification and spurious allelic association. *Lancet* 2003; **361**: 598-604.
- Chandrasekharan NV, Dai H, Roos LTK, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS.** COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic-antipyretic drugs: Cloning, structure and expression. *Proc Natl Acad Sci* 2002; **99**: 13926-31.
- Chen J, Chatterjee N.** Exploiting Hardy-Weinberg equilibrium for efficient screening of single SNP associations from case-control studies. *Hum Hered* 2007; **63**: 196-204.
- Dai D, Zeldin DC, Blaisdell JA, Chanas B, Coulter SJ, Ghanayem BI et al.** Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid. *Pharmacogenetics* 2001; **11**: 597-607.
- Definition and general considerations of DDD [on line],** last updated December 17, 2009 [cited December 29, 2011] WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology Norwegian Institute of Public Health Available at: http://www.whocc.no/ddd/definition_and_general_considera/
- Delgado Rodríguez M, LlorcaDíaz J, DoménechMassons JM.** Variantes de los estudios de casos y controles en genética. En: Signo Impressió Gràfica. Estudios de casos y controles. 4 ed. Barcelona; 2010. p. 125-32.

- Estany-Gestal A, Salgado-Barreira A, Sánchez-Diz P, Figueiras A.** Influence of CYP2C9 genetic variants on gastrointestinal bleeding associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs: a systematic critical review. *Pharmacogenet Genomics* 2011; **21**: 357-64.
- Evans WE, McLeod HL.** Pharmacogenomics - drug disposition, drug targets and side effects. *NEJM* 2003; **348**: 538-49.
- Evans WE, Relling MV.** Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; **286**: 487-91.
- Excoffier L, Laval G, Scheneider S.** Arlequín ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform (online)* 2005; **1**: 47-50.
- Felix Hoffmman,** inventor; Farbenfabriken of Elberfeldcompañía, titular. AcetylSalicylic Acid. Patente americana. US18980687385 18980801. BOPI 27-2-1900.
- Fleeman N, Martin Saborido C, Payne K, Boland A, Dickson R, Dundar Yet al.** The clinical effectiveness and cost-effectiveness of genotyping for CYP2D6 for the management of women with breast cancer treated with tamoxifen: a systematic review. *Health Technol Assess* 2011; **15**: 1-10.
- Gaedigk A, Casley WL, Tyndale RF et al.** Cytochrome P4502C9 (CYP2C9) allele frequencies in Canadian Native Indian and Inuit populations. *Can J Physiol Pharmacol* 2001; **79**: 841-7.
- García-Martín E, Martínez C, Ladero JM, AgúndezJA.** Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals. *Mol Diag Ther* 2006; **10**: 29-40.
- García-Martín E, Martínez C, Tabarés B, Frías J and Agúndez JA.** Interindividual variability in ibuprofen pharmacokinetics is related to interaction of cytochrome P450 2C8 and 2C9 amino acid polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2004; **76**: 119-27.
- García-Rodríguez LA, Cattaruzzi C, Troncón MG, AgostinisL.** Risk of hospitalization for upper gastrointestinal tract bleeding associated with ketorolaco, other nonsteroidal anti-inflammatory drugs, calcium antagonista, and other antihypertensive drugs. *Arch Intern Med* 1998; **158**: 33-9.

- Gardiner SJ and Bedd EJ.** Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. *Pharmacol Rev* 2006; **58**: 521-90.
- Gisbert JP, Abaira V.** Accuracy of Helicobacter pylori diagnostic tests in patients with bleeding peptic ulcer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2006; **101**: 848-63.
- González JR, Armengol L, Solé X et al.** SNPassoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics* 2007; **23**: 644-5.
- González-Pérez R, Poza-Guedes P, Vives R, Canto G.** Antiinflamatorios inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 (COX-2). *Alergol Inmunol Clin* 2002; **17**: 247-54.
- Gram DJ, Campen D, Hui R, Spence M, Cheetham C, Levy G et al.** Risk of acute myocardial infarction and sudden cardiac death in patients treated with cyclo-oxygenase 2 selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs: nested case-control study. *Lancet* 2005; **365**: 475-81.
- Halekoh U, Højsgaard S, Yan J.** The R Package geepack for Generalized Estimating Equations. *J Stat Soft* 2006; **15**: 1-11.
- Hernández-Díaz S, García-Rodríguez LA.** Association between non steroidal anti inflammatory drugs and upper gastrointestinal tract bleeding/perforation. *Arch Intern Med* 2000; **160**: 2093-9.
- Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM et al.** Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA* 2002; **287**: 1690-8.
- Huang JQ, Sridhar S, Hunt RH.** Role of Helicobacter pylori infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis. *Lancet* 2002; **359**: 14-22.
- Ingelman-Sundberg M, Daly AK, Nebert DW.** Human cytochrome P450 allele nomenclature. Available from: URL: <http://www.cypalleles.ki.se/CYPalleles/>.
- Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, McLellan RA et al.** Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci* 1999; **20**: 342-9.

- Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gómez A, Rodriguez-Antona C.** Influence of cytochrome P450 polymorphism on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeypigenetic and clinical aspects. *Pharm&Ther* 2007; **116**: 496-526.
- Ingelman-Sundberg M.** The human genome project and novel aspects of cytochrome P450 research. *Toxicol & App Pharmacol* 2005; **207**: 52-6.
- Jasani MK, Downie WW, Samuels BM, Buchanan WW.** Ibuprofen in rheumatoid arthritis. Clinical study of analgesic and anti-inflammatory activity. *Ann Rheum Dis* 1968; **27**: 457-62.
- Ji KY, Hu FL.** Interaction or relationship between Helicobacter pylori and non-steroidal anti-inflammatory drugs in upper gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2006; **12**: 3789-92.
- Jones R.** Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Prescribing: Past, Present and Future. *Am J Med* 2001; **110**: 4S-7S.
- Kidd RS, Curry TB, Gallagher S, Edeki T, Blaisdell J, Goldstein, JA.** Identification of a null allele of CYP2C9 in an African-American exhibiting toxicity to phenytoin. *Pharmacogenetics* 2001; **11**: 803-8.
- Kirchheiner J, Brockmöller J.** Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2005; **77**: 1-16.
- Klotz U.** Clinical impact of CYP2C19 polymorphism on the action of proton pump inhibitors: a review of a special problem. *Int J ClinPharmacol Ther* 2006; **44**: 297-302.
- Lanas A, Bajador E, Serrano P, Fuentes J, Carreño S, Guardia J et al.** Nitrovasodilators, low-dose aspirin, other non steroidal anti inflammatory drugs, and the risk of upper gastrointestinal bleeding. *NEJM* 2000; **343**: 834-9.
- Lanas A.** Cost stratification of nonsteroidal anti inflammaroty drug-associated gastrointestinal side-effects. *Med Clin (Barc)* 2000; **114**: 46-53.
- Laporte JR, Carné X, Vidal X, Moreno V, Juan J.** Upper gastrointestinal bleeding in relation to previous use of analgesics and non-steroidal anti-inflammatory drugs. Catalan Countries Study on Upper Gastrointestinal Bleeding. *Lancet* 1991; **337**: 85-9.
- Laporte JR, Ibáñez L, Vidal X, Vendrell L and Leone R.** Upper gastrointestinal bleeding associated with the use of NSAIDs. Newer versus older agents. *Drug Safety* 2004; **27**: 411-420.

- Lapple F, von Richter O, Fromm MF et al.** Differential expression and function of CYP2C isoforms in human intestine and liver. *Pharmacogenetics* 2003; **13**: 565-75.
- Lazarou J, Pomeranz BH and Corey PN.** Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients. A meta-analysis of prospective studies. *JAMA*. 1998; **279**: 1200-5.
- Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA.** Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics* 2002; **12**: 251-63.
- LLerena A, Dorado P, O'Kirwan F et al.** Lower frequency of CYP2C9*2 in Mexican-Americans compared to Spaniards. *Pharmacogenomics* 2004; **4**: 403-6.
- Ma J, Yang XY, Qiao L, Liang LQ and Chen MH.** CYP2C9 polymorphism in non-steroidal anti-inflammatory drugs-induced gastropathy. *Journal of Digestive Diseases* 2008; **9**: 79-83.
- Majano-Sánchez I.** Crónica de la aspirina [monografía en internet]. 2007 [acceso 28 de enero de 2012]. Disponible en: [≤http://www.actuallynotes.com/Cronica%20de%20la%20Aspirina.htm >](http://www.actuallynotes.com/Cronica%20de%20la%20Aspirina.htm).
- Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, Brancaccio V, Ciampa A, Grandone E et al.** Genetic modulation of oral anticoagulation with warfarin. *Thromb Haemost* 2000; **84**: 775-778.
- Martin JH, Begg EJ, Kennedy MA, Roberts R and Barclay ML.** Is cytochrome P450 2C9 genotype associated with NSAID ulceration? *Br J Clin Pharmacol* 2001; **51**: 627-30.
- Martin MH, Codina C, Tuset M, Carné X, Nogué S and Ribas J.** Problemas relacionados con la medicación como causa de ingreso hospitalario. *Med Clin* 2002; **118**: 205-10.
- Martínez C, Blanco G, Ladero JM, García-Martín E, Taxonera C, Gamito FG et al.** Genetic predisposition to acute gastrointestinal bleeding alter NSAID use. *Br J Pharmacol* 2004; **141**: 205-8.
- Mas S, Crescenti A, Vidal-Taboada JM et al.** Simultaneous genotyping of CYP2C9*2, *3, 5' flanking region (C-1189T) polymorphisms in a Spanish population through a new minisequencing multiplex single-base extension analysis. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; **61**: 635-41.

- Meyer UA.** Pharmacogenetics - five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nat Rev Genet* 2004; **5**: 669-76.
- Meyer UA.** Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet* 2000; **356**: 1667-71.
- Miners JO, Coulter S, Tukey RH, Veronese ME, Birkett DJ.** Cytochromes P450, 1A2, and 2C9 are responsible for the human hepatic O-demethylation of R- and S-naproxen. *Biochem Pharmacol* 1996; **51**: 1003-8.
- Morin S, Bodin L, Lorient MA, Thijssen HHW, Robert A, Strabach S et al.** Pharmacogenetics of acenocoumarol pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* 2004; **75**: 403-14.
- Motulsky AG.** Drug reactions, enzymes and biochemical genetics. *JAMA* 1957; **165**: 835-7.
- Mukherjee D, Nissen SE, Topol EJ.** Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors. *JAMA* 2001; **286**: 954-9.
- Musumba C, Pritchard DM, Pirmohamed M.** Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; **30**: 517-31.
- Nelson MR, Bacanu SA, Mosteller M, Li L, Bowman CE, Roses AD et al.** Genome-wide association to identify pharmacogenetic contributions to adverse drug reactions. *Pharmacogenomics J* 2008; **9**: 23-33.
- Nicolaou KC, Montagnon T.** Molecules That Changed the World. Publicado por Wiley VCH, 2008, p.13-4.
- O'Banion MK, Sadowski HB, Winn V, Young DA.** A serum- and glucocorticoid-regulated 4-kilobase mRNA encodes a cyclooxygenase-related protein. *J Biol Chem* 1991; **266**: 23261-7.
- Other applications of mixed models.** In: Brown H, Prescott R. Applied Mixed Models in Medicine. 2nd ed. New Jersey: John Wiley and Sons, 2006: p.320-1.
- Ozawa S, Shoket B, McDaniel LP et al.** Analyses of bronchial bulky DNA adduct levels and CYP2C9, GSTP1 and NQO1 genotypes in a Hungarian study populations with pulmonary diseases. *Carcinogenesis* 1999; **20**: 991-5.
- Peters EJ, McLeod HL.** Ability of whole-genome SNP arrays to capture 'must have' pharmacogenomic variants. *Pharmacogenomics* 2008; **9**: 1573-7.
- Pilotto A, Seripa D, Franceschi M, Scarcelli C, Colaizzo D, Grandone E et al.** Genetic susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drug-related

- gastroduodenal bleeding: role of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Gastroenterology* 2007; **133**: 465-71.
- Pirmohamed M and Park BK.** Genetic susceptibility to adverse drug reactions. *Trends Pharmacological Sci* 2001; **22**: 298-305.
- Pirmohamed M, James S, Meakin S, Green C, Scott AK, Walley TJ et al.** Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18820 patients. *BMJ* 2004; **329**: 15-9.
- Puehringer H, Loreth RM, Klose G, et al.** VKORC1 -1639G>A and CYP2C9*3 are the major genetic predictors of phenprocoumon dose requirement *Eur J ClinPharmacol* 2010; **66**: 591-8.
- Ramakrishnan K and Salinas RC.** Peptic ulcer disease. *AmFam Physician* 2007; **76**: 1005-12.
- Rettie AE, Wienkers LC, González FJ, Trager WF and Korzekwa KR.** Impaired (S)-warfarin metabolism catalyzed by the R144C allelic variant of CYP2C9. *Pharmacogenetics* 1994; **4**: 39-42.
- Rodriguez-Antona, Niemi M, Backman JT, Kajosaari LI, Neuvonen PJ, Robledo M et al.** Characterization of novel CYP2C8 haplotypes and their contribution to paclitaxel and repaglinide metabolism. *Pharmacogenomics J* 2008; **8**: 268-77.
- Rothman KJ, Greenland S. Case-control studies.** In: **Rothman KJ, Greenland S, Lash TL.** Modern Epidemiology. 2nd ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 1998:p100.
- Sadic J, Borgstrom A, Manjer J, Toth E, Lindell G.** Bleeding peptic ulcer - time trends in incidence, treatment and mortality in Sweden. *Aliment PharmacolTher* 2009;**30**:392-8.
- Sánchez-Diz P, Estany-Gestal A, Aguirre C, Blanco A, Carracedo A, Ibáñez L et al.** Prevalence of CYP2C9 polymorphisms in the south of Europe. *Pharmacogenomics J* 2009; **9**: 306 -10.
- Schwartz UI, Ritchie MD, Bradford Y, Chun Li, Dudek SM, Frye-Anderson A et al.** Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *NEJM* 2008; **358**: 999-1008.
- Shintani M, Ieiri I, Inoue K et al.** Genetic polymorphisms and functional characterization of the 5'-flanking region of the human CYP2C9 gene: *In vitro* and *in vivo* studies. *Clin Pharmacol & Ther* 2001; **70**: 175-82.

- Shiotani A, Sakakibara T, Nomura M, Yamanaka M, Nishi R, Imamura H et al.** Aspirin-induced ulcer and genetic polymorphisms. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2010; **25**: 31-4.
- Singh G.** Gastrointestinal complications of prescription and over-the-counter nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a view from the ARAMIS database. *Am J Ther* 2000; **7**: 115-21.
- Skron dal A.** Interaction as departure from additivity in case-control studies: a cautionary note. *Am J Epidemiol* 2003; **158**: 251-8.
- Spiegel BMR, Chiou CF and Ofman JJ.** Minimizing complications from nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cost effectiveness of competing strategies in varying risk groups. *Arthritis Rheum* 2005; **53**: 185-97.
- Steinhubl SR.** Genotyping, clopidogrel metabolism, and the search for the therapeutic window of thienopyridines. *Circulation* 2010; **121**: 481-3.
- Stephens M., Donnelly P.** A comparison of Bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am J Hum Gen* 2003; **73**: 1162-9.
- Stone E.** An Account of the Success of the Bark of the Willow in the Cure of Agues. In Letter to the Right Honourable George Earl of Macclesfield, President of R. S. from the Rev. Mr. Edmund Stone, of Chipping-Norton in Oxfordshire. *Philosophical Transactions [Internet]* 1763. [acceso 24 de enero de 2012]; 53: 195-200 Disponible en: <http://www.jstor.org/stable/105721.html>.
- Stubbins MJ, Harries LW, Smith G, Tarbit MH and Wolf CR.** Genetic analysis of the human cytochrome P450 2C9 locus. *Pharmacogenetics* 1996; **6**: 429-39.
- Sullivan-Klose TH, Ghayarem BI, Bell DA, Zhang ZY, Kaminsky LS, Shenfield GM et al.** The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics* 1996; **6**: 341-9.
- Taube J, Halsall D, Baglin T.** Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood* 2000; **96**: 1816-9.
- Topol EJ.** Failing the public health--rofecoxib, Merck, and the FDA. *NEJM* 2004; **31**: 1707-9.
- Van der Weide J, Steijns LSW, Van Weelden MJM et al.** The effect genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenitoin dose requirement. *Pharmacogenetics* 2001; **11**: 287-91.

- VanOijen MG, Laheij RJ.** Impact of CYP2C9 genotype on pharmacokinetics: are all NSAIDs the same? *Gastroenterology* 2007; **133**: 2073-4.
- Vane JR.** Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol.* 1971; **231**: 232-5.
- Vargas E, Cabrera L, Morón A, García M, Soto J, Rojas J.** Complicaciones gastrointestinales severas potencialmente relacionadas con el consumo de antiinflamatorios no esteroideos: coste del tratamiento hospitalario para el Sistema Nacional de Salud en nuestro país. *An Med Int (Madrid)* 2001; **18**: 564-8.
- Veronese ME, Doecke CJ, Mackenzie PI, McManus ME, Miners JO, Rees DL et al.** Site-directed mutation studies of human liver cytochrome P-450 isoenzymes in the CYP2C subfamily. *Biochem J* 1993; **289**: 533-8.
- Verstuyft C, Morin S, Yang J, Lorient MA, Barbu V, Kerb R et al.** A new, rapid and robust genotyping method for CYP2C9 and MDR1. *Ann Biol Clin* 2003; **61**: 305-9.
- Vesell ES.** Pharmacogenetic perspectives gained from twin and family studies. *Pharmacol Ther* 1989; **41**: 535-52.
- Vianna-Jorge R, Perini JA, Rondinelli E et al.** CYP2C9 genotypes and the pharmacokinetics of tenoxicam in Brazilians. *ClinPharmacolTher* 2004; **76**: 18-26.
- Vogel F.** Moderne Probleme der Humangenetik. *Ergebn. Inn. Med. Kinderheilk* 1959; **12**: 521-5.
- Vonkeman HE, van de Laar MAFJ, van der Palen J, Brouwers J and Vermes I.** Allele variants of the cytochrome P450 2C9 genotype in white subjects from the Netherlands with serious gastroduodenal ulcers attributable to the use of NSAIDs. *ClinTher* 2006; **28**: 1670-6.
- Wang L, McLeod HL, Weinshilboum RM.** Genomics and drug response. *NEJM* 2011 24; **364**: 1144-53.
- Wang SL, Huang J, Lai MD and Tsai JJ.** Detection of CYP2C9 polymorphism based on the polymerase chain reaction in Chinese. *Pharmacogenetics*. 1995; **5**: 37-42.
- Watson JD, Crick FH.** Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. J.D. Watson and F.H.C. Crick. Published in *Nature* 1953, 4356. *Nature* 1974; **248**: 765.

- Weiss ST, Silverman EK and Palmer LJ.** Case-control association studies in pharmacogenetics. *TPJ* 2001; **1**: 157-8.
- Wolfe MM, Lichtenstein DR, Singh G.** Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *NEJM* 1999; **340**: 1888-99.
- Xie HG, Prasad HC, Kim RB.** CYP2C9 allelic variants: ethnic distribution and functional significance. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; **54**: 1257-70.
- Yang JQ, Morin S, Verstuyff C, Fan LA, Zhang Y, Xu CD et al.** Frequency of cytochrome P450 2C9 allelic variants in the Chinese and French populations. *Fundam Clin Pharmacol* 2003; **17**: 373-6.
- Yasar U, Eliasson E, Dahl ML, Johansson I, Ingelman-Sunberg M and Sjoqvist F.** Validation of the methods for CYP2C9 genotyping: frequencies of mutant alleles in a Swedish population. *Biochem Biophys Res Comm* 1999; **254**: 628-31.
- Yasar U, Lundgren S, Eliasson E, Bennet A, Wiman B, de Faire U et al.** Linkage between the CYP2C8 and CYP2C9 genetic polymorphisms. *Biochem Biophys Res Comm* 2002; **299**: 25-8.

Anexos

Anexo I

Comités éticos



Edificio Administrativo San Lázaro, s/n
15771 Santiago de Compostela
Telf. (981) 54 64 25 — Fax (981) 54 18 04
E-mail: ceic@mail.xunta.es

Informe del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia

D. Miguel Amor Otero, Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia

CERTIFICA:

Que este Comité ha evaluado en su reunión del 13 de febrero de 2002 la propuesta de Adolfo Figueiras Guzmán para que se realice el estudio titulado *“Influencia de los polimorfismos genéticos en las hemorragias gastrointestinales asociadas a fármacos: Un estudio multicéntrico de casos y controles”*, con nuestro número de registro: **2002/020**, y considera que:

Se cumplen los requisitos éticos aplicables a este tipo de estudios.

Y que este Comité acepta, de conformidad con sus Procedimientos Normalizados de Trabajo, que dicho estudio sea realizado en el Centro/s C.H. Universitario de Santiago por Adolfo Figueiras Guzmán como investigador/es principal/es.

Lo que firmo en Santiago de Compostela a 14 de febrero de 2002.



NOTA genérica: Debido a las connotaciones éticas y la especial naturaleza del consentimiento informado, es exigible que, con anterioridad al reclutamiento de pacientes, esté disponible una versión fidedigna y redactada en gallego normativo del mismo (hojas de información y de firmas). Garantizándose así, el derecho de los gallegos al uso de su lengua oficial y la completa comprensión del consentimiento informado.



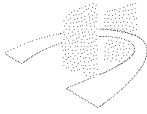
La Sra. Mireia Navarro, secretaria técnica del CEIC del Hospital Universitario Vall d'Hebron,

CERTIFICA:

Que en el acta número 197 que corresponde a la reunión del CEIC de 23 de marzo de 2012, consta lo siguiente:

El CEIC del HUVH considera que el estudio *“Influencia de los polimorfismos genéticos en las hemorragias gastrointestinales asociadas a fármacos: un estudio multicéntrico de casos y controles”*, cuyo investigador principal en nuestro centro es la Dra. Luisa Ibañez Mora, es adecuado desde el punto de vista ético y científico.

Sra. Mireia Navarro
Secretaria del CEIC
Barcelona, 28 de enero de 2012



HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO
Avda. Ramón y Cajal, 3
Tfno. 983 42 00 00
47005 - VALLADOLID



COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN

ACEPTACIÓN DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

D^a ANA ALMARAZ GÓMEZ, como Presidenta de la Comisión de Investigación del Hospital Universitario de Valladolid,

CERTIFICO:

Que ha sido sometido a esta Comisión para su valoración el Proyecto de Investigación titulado:

“ Polimorfismos Genéticos y respuesta idiosincrásica a fármacos: un estudio multicéntrico sobre riesgo de hemorragias gastrointestinales “

Que una vez estudiado dicho Proyecto, así como la capacidad del equipo investigador y los medios disponibles para su realización, esta Comisión ha evaluado favorablemente el mismo y su conducción por el **Doctor ALFONSO CARVAJAL GARCÍA-PANDO** , como Investigador/a Principal.

En Valladolid, a 20 de junio de 2005

LA PRESIDENTA DE LA COMISIÓN,

Junta de
Castilla y León



COMISION DE INVESTIGACION

RESUMEN DEL INFORME REFERENTE AL PROYECTO DE INVESTIGACION TITULADO:

“ Polimorfismos genéticos y respuesta idiosincrásica a fármacos: un estudio multicéntrico sobre riesgo de hemorragias gastrointestinales”

INVESTIGADOR PRINCIPAL

DR. ALFONSO CARVAJAL GARCIA PANDO. FACULTAD DE MEDICINA.

EQUIPO INVESTIGADOR :

DRA. CRISTINA MINER

DR. LUIS MARTÍN ARIAS.

DR. ELADIO VELASCO.

DRA. LOURDES DEL OLMO. (Servicio de Digestivo H.C.U.V.)

De la atenta consideración de los datos aportados y en virtud de los motivos que se indican, esta Comisión de Investigación ha resuelto:

- ☒ Aceptar el Proyecto de Investigación.
- ☐ Aceptar el Proyecto de Investigación, previa revisión de los aspectos que se indican a continuación: (observaciones)
- ☐ Rechazar el proyecto de investigación en virtud de los aspectos que se indican a continuación: (observaciones).

OBSERVACIONES:

**** Pendiente de evaluación definitiva en la próxima reunión de la Comisión.**

En Valladolid, a 7 de abril de 2005

LA PRESIDENTE DE LA COMISION,

Dra. Ana Almaraz Gómez.





Osakidetza
Servicio vasco de salud

GALDAKAOKO OSPITALEA
HOSPITAL DE GALDAKAO
Barrio Labeaga, s/n.
Teléfono 94 400 70 00
48960 - GALDAKAO (Bizkaia)

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Don **RAMON SARACHO ROTAECHE**, Presidente del comité Ético de Investigación
Clínica del HOSPITAL DE GALDAKAO

CERTIFICA

- Que habiendo evaluado el C.E.I.C, en reunión celebrada el 20 de febrero de 2002, el estudio: “Influencia de los polimorfismos genéticos en las hemorragias gastrointestinales asociadas a fármacos: Un estudio multicéntrico de casos y controles”, cuyo investigador principal es el Dr. Carmelo Aguirre, lo considera **APROBADO**

Lo que firmo en Galdakao a 28 de febrero de 2002

Fdo. Dr. Ramón Saracho.
PRESIDENTE C.E.I.C.



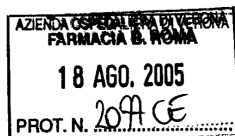
17-1-2005

17-1-2005

AZIENDA OSPEDALIERA
ISTITUTI OSPITALIERI DI VERONA

Prot. n. 339221

Verona 17 AGO. 2005



Allo Sperimentatore
Dott. ssa Anita Conforti
Farmacologia - OP
SEDE


Oggetto: Sperimentazione "Polimorfismi genetici e risposta idiosincrasica ai farmaci: studio multicentrico sul rischio di emorragie gastrointestinali". Parere del Comitato Etico. Seduta del 27.07.2005 - **Prog. n. 1223: Notifica.**

Ai sensi delle vigenti disposizioni normative e regolamentari, si trasmette in allegato il parere favorevole espresso dal Comitato Etico di questa Azienda Ospedaliera, di cui si fanno proprie le conclusioni.

Distinti saluti.

d'ordine del DIRETTORE GENERALE

IL DIRETTORE SANITARIO
Dott. Luciano Flor



COPIA:

- Direttore Sanitario
- Farmacia OCM - OP
- Dirigenza Sanitaria OCM - OP
- Bilancio e Progr. Finanziaria
- Serv. Amm.vo Area Sanitaria
- Comitato Etico



**AZIENDA OSPEDALIERA
ISTITUTI OSPITALIERI DI VERONA**



COMITATO ETICO PER LA SPERIMENTAZIONE
(Del. Direttore Generale n. 530 del 08.04.1999)

Ufficio di Segreteria

Orario: Martedì e Giovedì ore 09.00 – 13.00 Tel. 045/8074068 - Fax 045/8074090;
e-mail: comitato.etico@azosp.vr.it ; sito web: <http://www.sfm.univr.it/Farmacia>

UNITA' OPERATIVA CON SISTEMA QUALITA' UNI EN ISO 9001:2000 Certificato n. 7882/02/S

| | | |
|---|-----------------|---------------------------------|
| N. Prog. 1223 | Farmaco: | Ditta: |
| Titolo: Polimorfismi genetici e risposta idiosincrasica ai farmaci: studio multicentrico sul rischio di emorragie gastrointestinali. | | N. Prot: |
| Responsabile: Dr.ssa Conforti Anita | | Reperto: Farmacologia OP |

Il Comitato Etico, in osservanza a quanto previsto dalla legislazione vigente in materia di sperimentazione clinica, in particolare del D.M. n. 211 del 24/6/2003

_ ha accertato l'avvenuto versamento della quota per spese di istruzione ed esame della pratica

IN DATA: 27/07/05

**HA ESAMINATO LO STUDIO IN OGGETTO,
ED IN PARTICOLARE LA SEGUENTE DOCUMENTAZIONE:**

| | |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> Protocollo versione (n. pazienti locali previsti) | <input checked="" type="checkbox"/> Consenso informato |
| <input type="checkbox"/> Giudizio di notorietà | <input type="checkbox"/> Parere favorevole CE Centro Coordinatore |
| <input type="checkbox"/> Schema dei compensi | <input type="checkbox"/> Informazione per il medico curante |
| <input checked="" type="checkbox"/> Curriculum dello Sperimentatore | <input type="checkbox"/> Investigator's Brochure (versione) |
| <input checked="" type="checkbox"/> Elenco dei Centri partecipanti | <input type="checkbox"/> Dichiarazione dello Sponsor sulla copertura assicurativa |
| <input type="checkbox"/> Emendamento | <input type="checkbox"/> Ulteriore documentazione integrativa (in caso di precedente sospensiva) |
| <input checked="" type="checkbox"/> Foglio informativo per il paziente | |

Data arrivo documentazione completa: 05/07/05

HA ESPRESSO IL SEGUENTE PARERE:

| | | | |
|---|---|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> Approvata | <input type="checkbox"/> Approvata a condizione | <input type="checkbox"/> Non approvata per le motivazioni indicate | <input type="checkbox"/> Sospesa in attesa dei chiarimenti richiesti |
|---|---|--|--|

Note/richieste:

Si tratta di uno studio genetico multicentrico caso-controllo (1:3) sul rischio di emorragie gastrointestinali, che intende identificare i fattori genetici coinvolti nell'insorgenza delle emorragie gastrointestinali associate all'utilizzo di FANS e di SSRI. I casi saranno rappresentati dai pazienti ricoverati in ospedale con sintomi di emorragia digestiva superiore ed una o più delle seguenti diagnosi ottenute attraverso analisi endoscopica o chirurgica: ulcera del cardias, ulcera gastrica, ulcera pilorica, ulcera duodenale, erosione del cardias, lesione acuta della mucosa gastrica/gastrite erosiva, erosione pilorica, duodenite erosiva. I controlli saranno rappresentati da pazienti ricoverati con diagnosi di: ernia inguinale o ombelicale strozzata o programmata, adenoma della prostata, intervento chirurgico di cataratta, altra

N. prog. 1223

chirurgia elettiva senza episodi di dolore negli ultimi 3 mesi fino a 15 giorni prima dell'ingresso; nodulo della tiroide/cisti tiroidea. I casi e i controlli saranno arruolati indipendentemente dalla precedente assunzione di FANS o di SSRI; questo elemento è stato comunque tenuto in considerazione nel calcolo della dimensione dei campioni, per il quale è stata applicata la formula della grandezza per la determinazione di interazioni additive, e si è stimata una prevalenza di consumo di FANS del 15% e di SSRI del 5%.

Per raccogliere i dati necessari alla presente indagine i pazienti verranno sottoposti ad una intervista strutturata e ad un prelievo di sangue, che verrà effettuato nel corso dei prelievi routinari.

Il Comitato non solleva alcuna obiezione allo studio, che si considera pertanto approvato.

Al termine della Sperimentazione lo Sperimentatore invierà all'Ente un consuntivo del numero di pazienti reclutati e del relativo completamento dello studio per ciascuno di essi, ai fini della determinazione del totale da corrispondersi dallo Sponsor.

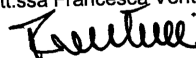
Componenti del Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera di Verona presenti alla discussione

| | | |
|--------------------------------|---|--|
| ALBERTON Dr. Franco | X | Ricercatore Universitario - Sezione di Medicina Legale, Università di Verona |
| BALLARIN Sig.ra Silvana | X | Caposala Day Hospital Centro Fibrosi Cistica - Azienda Ospedaliera VR |
| BONINSEGNA Dr. Fernando | X | Medico di Medicina Generale convenzionato |
| CAMPAGNARI Dr. Giancarlo | X | Responsabile Servizio Amministrativo Area Sanitaria |
| DE BERNARDO Prof. Maria Gloria | X | Esperto Bioetica |
| DE MARCO Prof. Roberto | X | Professore Ordinario di Statistica - Università di Verona |
| DEGLI ANTONINI Avv. Mario | X | Responsabile Affari Legali - Azienda Ospedaliera VR |
| FLOR Dr. Luciano | - | Azienda Ospedaliera - VR |
| LEONE Dr. Roberto | X | Farmacologo - Università di Verona |
| FERRARI Prof. Giuseppe | X | Neurologo |
| LO CASCIO Prof. Vincenzo | - | Professore Ordinario di Medicina Interna - Università di Verona |
| MAZZUCCO Prof. Alessandro | - | Professore Ordinario di Chirurgia Cardiovascolare - Università di Verona |
| MUGGEO Prof. Michele | - | Professore Ordinario di Endocrinologia e Mal. Metab. - Università di Verona |
| PREVIDI Dr. Mauro | X | Pediatra di Libera Scelta |
| SCROCCARO Dott.ssa Giovanna | X | Responsabile Servizio di Farmacia OP - Azienda Ospedaliera VR |
| TABARINI Sig.ra Gabriella | X | Rappresentante ADO |
| TURCO Prof. Alberto | X | Professore associato di Genetica Medica - Università di Verona |
| ZANOLLA Dr.ssa Luisa | X | Dirigente Medico, Reparto di Cardiologia - Azienda Ospedaliera VR |

I sopraindicati componenti del Comitato dichiarano di astenersi dal pronunciarsi su quelle sperimentazioni per le quali possa sussistere un conflitto di interessi di tipo diretto o indiretto.

Verona, 27/07/05

D'Ordine del Presidente del Comitato Etico
La Segretaria del Comitato Etico
Dott.ssa Francesca Venturini



Anexo II

Consentimientos informados

Consentimiento informado empleado en el Hospital Clínico Universitario de
Santiago de Compostela (CHUAC)

Influencia de los polimorfismos genéticos en las hemorragias gastrointestinales asociadas a fármacos: Un estudio multicéntrico de casos y controles

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Introducción. El riesgo de trastornos hemorrágicos producidos por fármacos es un problema sanitario muy importante por la gravedad potencial que reviste este tipo de procesos; máxime cuando los fármacos a estudiar (antiinflamatorios no esteroideos e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina) son de elevado consumo y el riesgo individual de producción de hemorragias puede verse potenciado por su administración conjunta.

Los enzimas biotransformadores de fármacos son las responsables de su eliminación (detoxificación) transformándolos en otros productos, por lo general menos activos. La capacidad metabolizadora varía de una persona a otra dependiendo de su dotación enzimática que está sometida a influencias genéticas y ambientales.

El hecho de que los enzimas metabolizadores estén sometidas a control genético, posibilita en nuestro caso poder establecer una asociación entre el perfil genético de una persona y el riesgo de padecer complicaciones hemorrágicas.

Objetivo del estudio. Valorar el riesgo de hemorragias por consumo de antiinflamatorios no esteroideos e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y su relación con los polimorfismos de los genes (genes diferentes) codificadores de los enzimas metabolizadores de fármacos.

Obtención de las muestras de sangre para el análisis genético. Se le extraerá una muestra de sangre (alrededor de 10 centímetros cúbicos) por el procedimiento habitual para efectuar sobre dicha muestra un análisis genético de los genes de dichos enzimas metabolizadores.

Confidencialidad. Las muestras serán utilizadas solo para los fines del estudio. El equipo de este estudio mantendrá confidencialidad de la información médica y genética obtenida. A cada muestra se le asociará un código con el que será posible identificar su muestra. Por otro lado, usted podrá tener acceso a su información genética que sea determinada durante el estudio.

Participación voluntaria. Su participación en el estudio es totalmente voluntaria, por lo que puede rechazar tomar parte en el estudio, o abandonarlo una vez iniciado, sin dar explicaciones o cuando así lo desee.

Institución: Facultad de Medicina (Departamento de Medicina Preventiva) y Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (Servicio de Medicina Preventiva, Servicio de Farmacología Clínica, Servicio de Aparato digestivo).

Investigador principal del estudio: Adolfo Figueiras Guzmán (Departamento de Medicina Preventiva de la Universidad de Santiago de Compostela. Tel: 981581237).

Monitor: María José López Otero (Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago de Compostela).

Formulario de aceptación del estudio: “Influencia de los polimorfismos genéticos en las hemorragias gastrointestinales asociadas a fármacos: Un estudio multicéntrico de casos y controles”

Yo _____, declaro bajo mi responsabilidad que he recibido información sobre el estudio.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He sido informado por _____

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio: 1. cuando quiera; 2. sin tener que dar explicaciones; 3 sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Santiago de Compostela,

Fecha

Firma del participante

Firma del monitor

Consentimiento informado empleado en el Hospital de Vall d'Hebrón de Barcelona

CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE PARA LAS MUESTRAS DESTINADAS A LA INVESTIGACIÓN GENÉTICA

Estudio epidemiológico: INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN LAS HEMORRAGIAS GASTROINTESTINALES ASOCIADAS A FÁRMACOS: UN ESTUDIO MULTICÉNTRICO DE CASOS Y CONTROLES

Este documento de consentimiento puede contener palabras que usted no comprende. Por favor, pida al médico del estudio o al personal que trabaja con él que le explique cualquier palabra o información que no entienda perfectamente.

Investigador: Luisa Ibáñez Mora. Cristina Rebordosa

Promotor: Fondo de Investigación Sanitaria. Instituto de Salud Carlos III. Subdirección General de Investigación Sanitaria. Ministerio de Sanidad y Consumo.

Introducción:

El propósito de este documento de consentimiento informado es proporcionarle información para que pueda decidir si quiere que le extraigan una muestra de sangre adicional a propósito del estudio epidemiológico en el que estaría usted participando. Esta muestra de sangre se utilizará en una investigación genética tal y como se comenta más adelante. **Este documento de consentimiento es otro distinto del consentimiento para acceder a participar en el estudio epidemiológico y no pretende reemplazar o modificar a este último. La participación en esta investigación genética es voluntaria. Si decide que no desea participar en ella, puede seguir participando en el estudio epidemiológico, siempre que haya dado su consentimiento para ello. En total, se espera que en el estudio participen unos 3000 pacientes.**

Investigación:

El material obtenido de su muestra de sangre se utilizará en una investigación genética que tiene como objetivo estudiar los factores genéticos que pueden tener importancia en la aparición de ciertos efectos adversos a medicamentos en las personas. Asimismo el material obtenido de su muestra de sangre se podría conservar indefinidamente ("en un banco de muestras") para poder realizar futuras investigaciones genéticas acerca de la aparición de efectos indeseados a medicamentos, **que podría ser compartida con laboratorios de otros países.** Con la firma de este documento de consentimiento, usted está concediendo al Promotor (Fondo de Investigación Sanitaria) su permiso para utilizar el material obtenido de su sangre en todas las investigaciones mencionadas.

Procedimiento:

Si accede a participar, **se le extraerá durante su estancia en el hospital unos 6 ml adicionales de sangre.** Esta muestra se enviará entonces al investigador del laboratorio de hematología del Hospital Universitario Vall d'Hebrón, que obtendrá el material genético (ADN) de la muestra. El ADN es un material genético de su organismo que sirve para elaborar proteínas, entre ellas las relacionadas con el metabolismo de los fármacos.

Riesgos:

La muestra de sangre para la investigación genética mencionada se extraerá al mismo tiempo que las muestras para las demás pruebas de laboratorio que usted necesita, por tanto su extracción no conlleva un riesgo adicional.

Beneficios:

Usted no obtendrá un beneficio directo como resultado de la investigación genética practicada con el material obtenido de su muestra de sangre. Un posible beneficio indirecto es que su participación pueda contribuir a comprender mejor los factores que pueden influir en el desarrollo de efectos indeseados a medicamentos y de este modo poder prevenirlos mejor.

Retirada del consentimiento:

En todo momento usted puede retirar este consentimiento y suspender su participación en la investigación genética antes descrita, sin que ello afecte su participación en el estudio epidemiológico. En ese caso debe comunicar a la investigadora *Luisa Ibáñez Mora*, teléfono 93 428 30 29, o a la persona designada por ella que desea retirar su consentimiento y suspender su participación en ella.

Destrucción de las muestras:

El investigador retendrá los archivos que relacionen su identidad con la muestra de sangre durante el periodo de tiempo que obligue la legislación vigente. Hasta que se destruyan esos documentos, usted puede solicitar la destrucción de su muestra de sangre y el material obtenido de ella. En ese caso debe comunicar a la investigadora o a la persona por ella designada que desea que destruyan su muestra de sangre y el material obtenido de ella. La investigadora se lo notificará al laboratorio de hematología, que destruirá todas sus muestras de sangre y el material obtenido de ellas que todavía conserve.

Confidencialidad:

La información obtenida en la investigación genética practicada con material procedente de su sangre, se conservará de manera confidencial, de modo que ni la investigadora ni el promotor (Fondo de Investigación Sanitaria) relacionarán con su identidad los resultados de su investigación genética individual. Su muestra de sangre y el material procedente de ella recibirán un código de muestra, que sólo se relacionará con información relativa a su edad, sexo, origen étnico, estado de salud y otros datos como por ejemplo, su ingesta de medicamentos. Su nombre y número de la seguridad social (o cualquier otra información que lo identifique a usted en exclusiva) no se vinculará a la muestra que haya donado.

La investigación genética no tiene como objeto facilitarle información clínica. Usted sabe y está de acuerdo en ello, que no se le comunicarán los resultados de su investigación genética individual. La información resultante de la investigación no se incluirá en sus documentos médicos. Ni usted, ni miembros de su familia, terceras personas, ni los investigadores tendrán acceso a los resultados de su investigación genética individual.

Al firmar este documento, es consciente de que sus documentos pueden ser revisados. Sus datos se encontrarán protegidos por la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de datos.

Beneficios :

Desconocemos por el momento si los resultados de esta investigación podrían utilizarse en el desarrollo comercial de nuevos medicamentos o técnicas

diagnósticas, si así fuera, usted sabe y está de acuerdo en ello, que no recibirá beneficios ni compensaciones por este tipo de desarrollos, sobre los que no tendrá derecho alguno.

Preguntas/Información:

Si tiene alguna pregunta acerca de la obtención de las muestras o la investigación genética que se han mencionado, póngase en contacto con *Luisa Ibáñez Mora o Cristina Rebordosa, en el teléfono 93 428 30 29.*

Revisión ética:

Un Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) formado por un grupo de personas, médicos y otros profesionales, han revisado la información del estudio con el objetivo de proteger al sujeto participante en el mismo.

Consentimiento informado:

Título del estudio:

“Influencia de los polimorfismos genéticos en las hemorragias gastrointestinales asociadas a fármacos: un estudio multicéntrico de casos y controles”

Yo,
(nombre y apellidos)

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con
(nombre y apellidos del monitor)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera
2. Sin tener que dar explicaciones
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

Fecha

Firma del participante

N.º de identificación del paciente.....

N.º de identificación del centro.....

01/11/07

24/11/07

Polimorfismos genéticos y respuesta idiosincrásica a fármacos: un estudio multicéntrico sobre riesgo de hemorragias gastrointestinales.**Formulario del consentimiento**

Centro Investigador: Fundació Institut Càtala de Farmacologia

Investigador principal: Luisa Ibáñez Mora

Apellidos: Nombre

Doy mi pleno consentimiento, de manera libre, para participar en este estudio. **He comprendido la información que me han ofrecido sobre este proyecto (He leído la hoja informativa sobre el proyecto).** He comprendido que la investigación es una contribución a los conocimientos médicos y que no forma parte de ningún tratamiento que pueda estar recibiendo en la actualidad. Sé que puedo retirar mi consentimiento en cualquier fase del procedimiento. Estoy de acuerdo en que, tras eliminar mi nombre y mis datos identificativos, el DNA preparado a partir de la muestra de sangre se utilice en estudios de variación genética (secuencia del DNA). Estos estudios incluyen la investigación de predictores genéticos de reacciones a fármacos, aunque no están limitados a ella.

He comprendido que no puedo reclamar ningún derecho en la utilización no restringida de esta muestra de sangre o de cualquier material preparado a partir de ella. **Estoy de acuerdo en que esta muestra de sangre se pueda transformar en una línea celular permanente**, que estará a disposición de investigadores cualificados para la investigación, para la enseñanza y para propósitos terapéuticos o diagnósticos. **He comprendido que las muestras de DNA o las líneas celulares preparadas a partir de la muestra pueden ser compartidas con laboratorios de otros países.**

Doy mi permiso para que los datos de mi historia clínica sean utilizados por el equipo investigador para cotejarlos con la muestra de sangre, entendiendo que tras esta comprobación se eliminará del registro toda la información que pudiera identificarme.

Firmado.....

Fecha.....

Confirmando que he explicado al participante el carácter y el propósito del proyecto de investigación:

Firmado.....(miembro del equipo investigador)

Copia del formulario del consentimiento entregado al paciente



Consentimiento informado empleado en los hospitales de Galdakao y de Valladolid

**INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN LAS HEMORRAGIAS GASTROINTESTINALES
ASOCIADAS A FÁRMACOS: UN ESTUDIO MULTICÉNTRICO DE CASOS Y CONTROLES****Hoja informativa para los pacientes**

[Unidad de Farmacovigilancia. Hospital de Galdakao]
[Investigador principal : Carmelo Aguirre.]

¿Por qué hacemos esta investigación?

Estamos investigando por qué algunas personas, y no otras, sufren reacciones graves cuando toman ciertos fármacos. De manera específica, intentamos descubrir la existencia de genes que predigan el riesgo de reacciones a medicamentos. Esta investigación puede llevar al desarrollo de pruebas genéticas que permitan que las personas con riesgo eviten el uso de fármacos con probabilidades de producirles daños. Si usted ha sufrido una reacción grave a medicamentos, este estudio podría ser beneficioso para sus familiares, los cuales comparten algunos de sus genes. El descubrimiento de genes y de proteínas implicadas en las reacciones a medicamentos puede también ayudar a los investigadores a diseñar fármacos más seguros que no produzcan estas reacciones.

Como la mayor parte de las reacciones a medicamentos son raras, investigadores médicos de diversos centros de España han acordado recoger, a través de un cuestionario específico, datos acerca de los antecedentes de exposición a medicamentos y enfermedades, así como muestras de sangre de personas que han sufrido una hemorragia gastrointestinal. Mediante esta cooperación se puede reunir el número necesario para que los resultados sean válidos en términos estadísticos. Además, se podrá crear un banco de muestras de DNA de personas que han sufrido una hemorragia gastrointestinal. Tras eliminar toda la información que pueda identificar a las personas participantes, estas muestras de DNA podrán compartirse, en el futuro, con otros investigadores de toda Europa que están estudiando las causas de las reacciones a fármacos.

En el [Hospital de Galdakao] el estudio es dirigido por [el Dr. Carmelo Aguirre] en el [Unidad de Farmacovigilancia].

¿Por qué han pensado en incluirme en el estudio?

Ud. ha sido diagnosticado por su médico de hemorragia gastrointestinal y cumple con los criterios definidos para ser incluido en el estudio.

¿Qué le pedimos que haga?

La participación en este proyecto es voluntaria. Le pedimos que conteste las preguntas del cuestionario que le formulará un investigador del estudio (monitor) y que done una muestra de sangre para estudios genéticos. Su médico se encargará de que se le haga la extracción de la muestra de sangre, procurando realizarla de forma conjunta a otras extracciones diagnósticas, para evitar, en lo posible, pinchazos reiterados. También solicitamos su permiso para que el equipo investigador recoja datos de la documentación clínica relativos al ingreso (por ejemplo, informe de endoscopia).

¿Cómo se protegerá su intimidad?

La muestra de sangre, su cuestionario y la documentación de su reacción, serán codificadas y no se registrará en medios informáticos ninguna información que pudiera identificarle. Sin embargo, si mediante este proyecto de investigación se descubrieran pruebas genéticas que pudieran beneficiarle a usted o a su familia, le aseguramos que su médico será informado de estos descubrimientos y podrá aconsejarle lo que proceda.

Al finalizar el estudio, la documentación del mismo y la muestra sobrante se conservará bajo la custodia del investigador coordinador del estudio [Dr. Carmelo Aguirre] en el Hospital de Galdakao. Transcurrido el plazo de tiempo necesario para el análisis de los resultados, los cuestionarios serán destruidos y la muestra sobrante quedará disociada del donante (Ud.) convirtiéndose en una **muestra anonimizada** que, en el futuro, podrá utilizarse en otros estudios de variación genética. A partir de ese momento será imposible vincular la muestra con su identidad y no podremos informarle de los resultados de las pruebas genéticas llevadas a cabo con su muestra de DNA.

Si tiene alguna pregunta sobre el proyecto, haga el favor de ponerse en contacto con

[Dr. Carmelo Aguirre]
48015

Dirección : Hospital de Galdakao. Avda Montevideo 18.

Teléfono : 94.400.60.76

Consentimiento informado utilizado en la Azienda Ospedaliera de Verona

**FOGLIO DI INFORMAZIONE PER IL PAZIENTE PER
LA PARTECIPAZIONE ALLO STUDIO:****“Polimorfismi genetici e risposta idiosincrasia ai farmaci: studio multicentrico sul rischio di emorragie gastrointestinali”**

Mediante questo documento Le chiediamo di partecipare ad uno studio epidemiologico che stiamo svolgendo all'interno dell'Azienda Ospedaliera di Verona. Prima che Lei decida in merito alla Sua partecipazione è importante che capisca lo scopo per cui la ricerca viene effettuata e cosa può comportare per Lei.

La preghiamo pertanto di leggere con attenzione questo documento e, se lo desidera, di discuterne con la dott.ssa Marianna Passiu che Le ha appena fornito questo foglio o, se lo ritiene più opportuno, con il medico del reparto che La ha in cura.

Perché e come viene effettuato questo studio?

Le emorragie gastrointestinali sono uno dei più frequenti e gravi effetti negativi provocati dai farmaci. Questo studio ha l'obiettivo di comprendere meglio le cause che possono determinare un'emorragia gastrointestinale e, in particolare, vuole stabilire se esiste una correlazione tra il profilo genetico di una persona e la comparsa di un'emorragia.

Per raggiungere questo obiettivo realizzeremo un'intervista, tramite un questionario, a persone ricoverate in Ospedale a causa di un'emorragia gastrointestinale, [come nel suo caso], e ad altre persone che ugualmente sono state ricoverate in Ospedale per altre malattie [come nel suo caso]. Inoltre effettueremo delle indagini genetiche su campioni di sangue per determinare se vi sono delle differenze, tra le diverse persone coinvolte nello studio, a livello di alcuni specifici geni coinvolti nella risposta ai farmaci, per capire se queste eventuali differenze sono alla base del danno causato dai farmaci.

Sono obbligato/a a partecipare allo studio?

La decisione di partecipare o non partecipare allo studio dipende solo da Lei. Se deciderà di partecipare Le verrà fornito un modulo di adesione allo studio che dovrà firmare. Nel caso che Lei non sia disponibile a partecipare allo studio, o in qualsiasi momento decida di ritirarsi dallo studio, questo non influenzerà minimamente il Suo rapporto con il personale sanitario del reparto né la qualità delle prestazioni sanitarie che riceve.

Quali sono i possibili vantaggi nel partecipare allo studio?

Lei non otterrà un beneficio diretto dai risultati di questo studio. Un possibile beneficio indiretto, è che la Sua partecipazione può aiutare a comprendere meglio i fattori che possono contribuire alla comparsa degli effetti indesiderati dei farmaci, e il modo per prevenirli.

Non sappiamo, al momento, se i risultati di questa ricerca porteranno allo sviluppo commerciale di nuovi farmaci o tecniche diagnostiche, nel caso in cui ciò dovesse avvenire non riceverà benefici o compensi.

Cosa dovrò fare e quali rischi corro se accetto di partecipare?

Se Lei è disponibile a partecipare allo studio dovrà rispondere alle domande di un questionario, che Le saranno poste dalla dott.ssa Marianna Passiu. Le domande riguardano il Suo stato di salute, alcune abitudini di vita (per esempio se fuma o meno) e il consumo di farmaci. La durata dell'intervista sarà più o meno di mezz'ora e sarà attuata evitando di crearLe disagio o affaticamento.

Inoltre Le verranno prelevati, durante il periodo di ricovero ospedaliero, 6 ml di sangue per la ricerca genetica. Il prelievo di sangue, verrà eseguito nello stesso momento in cui le verranno fatti gli altri prelievi di cui Lei necessita, per tanto non correrà nessun rischio aggiuntivo.

Che fine farà il sangue prelevato per la ricerca genetica?

Il campione di sangue verrà inviato al prof. Alberto Turco del laboratorio di Genetica Medica dell'Università di Verona, il quale ricaverà il materiale genetico (DNA) indispensabile per lo studio. Il materiale ottenuto dal prelievo verrà utilizzato per studiare i fattori genetici che possono contribuire all'insorgenza di effetti avversi da farmaci.

Una parte del sangue da Lei donato sarà congelato e conservato per 10 anni per poter eseguire in futuro ulteriori ricerche relative ad effetti indesiderati da farmaci. Con la firma di questo documento, Lei consentirà al prof. Turco di utilizzare il Suo sangue **solo ed esclusivamente** per gli scopi scientifici che Le sono stati illustrati.

Lei può richiedere la distruzione dei Suoi campioni e la cancellazione dei Suoi dati in qualsiasi momento. Qualora decidesse di farlo si potrà rivolgere direttamente al prof. Alberto Turco, (Laboratorio della sezione di Biologia e Genetica del Dipartimento materno infantile e biologia genetica dell'Università di Verona, 045/8027189), che provvederà alla distruzione dei campioni di sangue e del materiale genetico conservato.

Le informazioni raccolte saranno riservate?

I dati ottenuti tramite l'intervista e utilizzando il Suo sangue verranno conservati in modo tale che il ricercatore non possa risalire alla Sua identità.

Le informazioni raccolte tramite l'intervista saranno inserite e conservate in un archivio elettronico in maniera anonima (non sarà inserito né il suo nome, né l'indirizzo e la città di residenza, né il numero della cartella clinica relativa al Suo ricovero, né qualsiasi altra informazione che possa permettere di risalire alla Sua identità) e identificati tramite un codice numerico. La scheda cartacea verrà distrutta dopo l'inserimento dei dati.

Alla provetta contenente il Suo campione di sangue per la ricerca genetica verrà apposta un'etichetta contenente esclusivamente lo stesso codice numerico dei dati clinici. In questo modo i risultati genetici potranno essere correlati solo con la Sua età, sesso, origine etnica, stato di salute e altri dati come, per esempio, l'assunzione di farmaci, ma non potranno essere collegati alla Sua identità.

La ricerca non ha come oggetto l'informazione clinica. I risultati della ricerca non le verranno comunicati e l'informazione ottenuta dalla ricerca non verrà inclusa nei suoi documenti medici. Né lei, né i membri della Sua famiglia, né terzi, né i ricercatori avranno accesso ai singoli risultati della ricerca genetica. Eventuali pubblicazioni scientifiche derivanti dallo studio conterranno esclusivamente dati raggruppati e non riferiti a singoli pazienti.

MODULO PER IL CONSENSO INFORMATO

Titolo dello studio: **Polimorfismi genetici e risposta idiosincrasica ai farmaci: studio multicentrico sul rischio di emorragia gastrointestinale**

Responsabile dello studio:

Dott.ssa A. Conforti

U.O. di Farmacologia Medica, Policlinico G.B. Rossi, Verona

Tel: 045/8074245

aconforti@sfm.univr.it

Responsabile per la raccolta dati:

Dott.ssa Marianna Passiu

U.O. di Farmacologia Medica, Policlinico G.B. Rossi, Verona

045/8074904

mpassiu@sfm.univr.it

Nome e cognome del/della paziente: _____

Io sottoscritto/a affermo di avere avuto il tempo necessario e la possibilità di informarmi sullo studio in oggetto.

Ho letto le informazioni riportate nel foglio informativo che mi è stato consegnato.

Ho compreso lo scopo di questo studio e quali sono i vantaggi e i rischi prevedibili.

Ho compreso che la mia partecipazione è volontaria e che posso rifiutarmi di partecipare allo studio senza nessuna conseguenza.

Ho compreso che i dati riguardanti la mia persona, inclusi i risultati dei test genetici, saranno resi anonimi e che la mia partecipazione allo studio sarà nota solo al responsabile dello studio e ai suoi collaboratori.

Ho compreso che posso ritirarmi dallo studio:

1. Quando voglio
2. Senza dover dare alcuna spiegazione
3. Senza ripercussioni di alcun tipo

Mi rendo disponibile in piena libertà a partecipare allo studio.

Firma del partecipante: _____

Data: _____

Anexo III

Cuestionario

Pegatina al
ingreso

Código
cuestionario

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

Polimorfismos genéticos y respuesta
idiosincrásica a fármacos: Un estudio
multicéntrico sobre el riesgo de
hemorragias gastrointestinales.

| Datos generales del paciente | | | | |
|---------------------------------------|--|--------------------------------|---|----------------------|
| Nombre y apellidos* | | | | |
| Fecha de nacimiento | <input type="text"/> | de | <input type="text"/> | de |
| Edad | <input type="text"/> | | | |
| Sexo | <input type="checkbox"/> hombre | <input type="checkbox"/> mujer | | |
| Talla | ____/____ m | | | |
| Peso | _____ Kg | | | |
| Dirección*(Municipio) | _____ | | Tiempo <input type="checkbox"/> > o =3meses <input type="checkbox"/> <3meses | |
| Teléfono* | | | | |
| Profesión | | | | |
| Nº historia* | | | | |
| Fecha ingreso/referencia | <input type="text"/> | de | <input type="text"/> | de |
| Fecha de entrevista | <input type="text"/> | de | <input type="text"/> | de |
| Etnia (se codificará a posteriori) | Caucasoide Negroide Mongoloide Dudoso | <input type="text"/> | Propia | Padre |
| | | País de origen | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| | | Lengua nativa | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Estudios | <input type="text"/> | | | |

| ¿Cuándo fue la última vez que acudió a un centro asistencial (urgencias, hospital de día) o ingresó en un hospital? | |
|---|--|
| Fecha de ingreso | <input type="text"/> de <input type="text"/> de <input type="text"/> |
| Fecha de alta | <input type="text"/> de <input type="text"/> de <input type="text"/> |
| Centro | |
| Motivo ingreso/preoperatorio | |

Código cuestionario

| Síntomas guía anteriores al ingreso (casos) 30 días | | | | | | | |
|---|-------------------------|----|----|----|---|--|--|
| ¿En el último mes usted ha tenido...? | | No | Si | NS | Fecha de inicio | | |
| Heces oscuras, pegajosas y malolientes | | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Vómitos oscuros /sanguinolentos | | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Mareo | | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Pérdida de conocimiento | | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Sudoración intensa | | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Cansancio intenso | | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Palidez | | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Heces con sangre (asegurar no hemorroides) | | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Molestias de estómago | Ardor/acidez/quemazón | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| | Pesadez/digestión lenta | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| | Dolor epigástrico | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> | de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |

Código
cuestionario

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

| TIPO DE CONTROL (Programados) | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|--|----|----|----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| TIPO* | | No | SI | NS | Día inicio | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> | Adenoma de próstata / hiperplasia prostática | | | | | | | | | | | | |
| | Retención aguda de orina | | | | <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | Sonda vesical permanente en los últimos 3 mes <small>(sólo se podrá incluir si ha llevado sonda en los últimos 15 días)</small> | | | | <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> | Hernia inicio tumoración | | | | <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | Dolor en los últimos 2 meses <small>(sólo se podrá incluir si el dolor ha sido en los últimos 15 días antes del ingreso)</small> | | | | <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> | Fimosis, orejas en asa, ligadura de trompas, nódulo tiroides eutiroides | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> | Cataratas | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> | Cirugía plástica | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> | Lipomas | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> | Quiste cuerdas | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> | Septoplastia | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> | Varicectomia | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> | Otros (Especificar) | | | | | | | | | | | | |

Quando se trate de uno de estos tipos de controles hacer las siguientes preguntas:

| ¿Le han dicho que no tomara ningún medicamento en relación con esta operación, o ha dejado de tomar alguno por su cuenta? | | | | | | | | | | | |
|---|-------------|----------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| No | Si | ¿cuáles? | Fecha de la última ingesta | | | | | | | | |
| 1 | | | <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| 2 | | | <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| 3 | | | <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| 9 | Desconocido | | <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td></tr></table> de <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |

* Señalar con una "X" el tipo de control de que se trate

| Antecedentes personales | | | | | | | |
|---|-------------------------|--------------------------|----|----|------------------------|----|--|
| | | ¿Ha tenido en el pasado? | | | ¿Acudió a un hospital? | | ¿Cuántos años tenía?(¿Cuánto tiempo hace?) |
| | | No | Si | NS | No | Si | |
| A. Úlcera de estómago | | | | | | | <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px; display: inline-block;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px; display: inline-block;"></div> () |
| B. Úlcera de intestino | | | | | | | <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px; display: inline-block;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px; display: inline-block;"></div> () |
| C. Heces oscuras/negras | | | | | | | <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px; display: inline-block;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px; display: inline-block;"></div> () |
| D. Vómitos oscuros /sanguinolentos | | | | | | | <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px; display: inline-block;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px; display: inline-block;"></div> () |
| E. Heces con sangre (asegurar no hemorroides) | | | | | | | <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px; display: inline-block;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 30px; height: 20px; display: inline-block;"></div> () |
| F. Molestias de estómago | Ardor/acidez/quemazón | | | | | | |
| | Pesadez/digestión lenta | | | | | | |
| | Dolor epigástrico | | | | | | |

(Para los que tienen antecedentes de úlcera/sangrado)

| | Episodio* | No | Si | NS | ¿Conoce el nombre del medicamento? |
|---|-----------|----|----|----|------------------------------------|
| ¿Le han dicho alguna vez que había tenido ese episodio por algún medicamento? | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

*Especificar el código (A, B...E) del episodio de la tabla anterior. Si hay más de un medicamento asociado a un episodio, poner el código del episodio en otra línea, y poner el medicamento

| Antecedentes familiares | | | | |
|---|---|----|----|------------------------------------|
| (Para TODOS) | No | Si | NS | |
| ¿Conoce Vd. algún familiar que padeciese o padezca sangrado de estómago o de intestino a causa de una úlcera? | | | | |
| | No | Si | NS | ¿Conoce el nombre del medicamento? |
| ¿Fue por algún medicamento? | | | | |
| ¿Parentesco? | <input type="checkbox"/> Padres, hermanos, hijos. | | | |
| | <input type="checkbox"/> Abuelos, tíos directos | | | |

Código cuestionario

| Antecedentes personales | | | | |
|---|--------------------------|----|----|--|
| | ¿Ha tenido en el pasado? | | | ¿Cuántos años tenía? (¿Cuánto tiempo hace?) |
| | No | Si | NS | |
| 1. Enfermedad del corazón especificar _____ | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 2. Enfermedad de la sangre especificar _____ | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 3. Enfermedad renal especificar _____ | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 4. Enfermedad respiratoria especificar _____ | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 5. Enfermedad del hígado especificar _____ | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 6. Hipertensión arterial | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 7. Colesterol elevado | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 8. Diabetes | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 9. Depresión | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 10. Migraña | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 11. Artrosis | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 12. Artritis | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 13. Osteoporosis | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| Otras enfermedades crónicas | | | | |
| 14. _____ | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 15. _____ | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |
| 16. _____ | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> () |

| FECHA DE REFERENCIA: | | | | | | | | | | MES 2 (DÍAS 29-60) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------|--|---------------|---|---|-------------------|------------|------|---|---|--------------------|---|---|----------|------------|------|---|---|---|---|----------|---|------------|------|---|---|---|----------|---|---|------------|------|---|---|-------------------|------------|----------|---|---|---|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| INDIC | NOMBRE DEL FARMACO CÓDIGO DEL FARMACO | FORMA FARM | Q | I | ÚLTIMO CONSUMO | SEMANA 1 | | | | | | | SEMANA 2 | | | | | | | SEMANA 3 | | | | | | | SEMANA 4 | | | | | | | ÚLTIMO CONSUMO | FRECUENCIA | DURACIÓN | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | FRECUENCIA | DÍAS | | | | | | | FRECUENCIA | DÍAS | | | | | | | FRECUENCIA | DÍAS | | | | | | | FRECUENCIA | DÍAS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | 1 | 2 | 3 | | | | 4 | 5 | 6 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | D | N | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| ¿Ha tomado alguna de estas bebidas en los últimos dos meses? | | | | | | | | | | | | | |
|--|--------|----|----------------------|----------------------|----|----------------------|--|----------------------|------------|---------|--|--|--|
| | ¿Toma? | | Fecha | | | | ¿Con que frecuencia y nº? ⁽²⁾ : | | | | | | |
| | No | Si | Ultima toma | | | | Diaria | Semanal | Fin semana | Mensual | | | |
| Café | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| Descafeinado | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| Te | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| Coca-cola | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| Vino tinto | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| Vino blanco | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| Cerveza | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| Licores ⁽¹⁾ : | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| Zumo de pomelo | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| Hierbas medicinales ⁽¹⁾ : | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |
| | | | <input type="text"/> | <input type="text"/> | q6 | <input type="text"/> | <input type="text"/> | <input type="text"/> | | | | | |

- | | | | | | | |
|---|--|--|--|----|----|----|
| H. pylori | | | | No | Si | NS |
| ¿Recuerda que su médico alguna vez le haya dicho que tiene alguna bacteria o microorganismo en el estómago que le provoque úlceras o problemas de estómago? | | | | | | |
- ↓
- | | | | | |
|---|----|----|----|--|
| | No | Si | NS | Fecha de inicio |
| ¿Ha tomado algún medicamento para ello? | | | | <input type="text"/> <input type="text"/> qe <input type="text"/> <input type="text"/> qe <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |

Código cuestionario

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

| Información sobre la entrevista | | | |
|--|----------|----------|----------|
| | Paciente | Familiar | Cuidador |
| Presente en la entrevista | | | |
| Principal fuente de de información | | | |
| Nº de veces que se ha visitado/contactado con el paciente: __ __ | | | |
| Valoración de la fiabilidad de la entrevista (de 0 a 10): __ __ | | | |

| Parámetros Clínicos (en el momento del ingreso/preoperatorio) | | | |
|--|--|-----------------|--|
| Nº concentrados hematíes | | Urea plasmática | |
| Albúmina | | | |
| Tiempo Quick | | | |
| Creatinina plasmática | | | |

| Informe de endoscopia (sólo casos) | | | | | | | | | |
|---|--|--|--|--|--|----------------|--|--|--|
| Fecha de la endoscopia __ __ qe __ __ qe __ __ __ | | | | | | Códigos | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |

| Diagnósticos al alta (ICD10) (sólo casos) | | | |
|--|--|---|--|
| 1 | | 5 | |
| 2 | | 6 | |
| 3 | | 7 | |
| 4 | | 8 | |

| Códigos de las muestras biológicas | | | |
|---|--------|--------------------|------------------------------|
| | Código | Resultado H.pylori | Fecha de extracción |
| Sangre | | | __ __ qe __ __ qe __ __ __ |
| Suero/plasma | | | |

| | | |
|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| Alta <input type="checkbox"/> | Muerte <input type="checkbox"/> | Fecha __ __ qe __ __ qe __ __ __ |
|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|

SÍNTOMAS

Ahora me gustaría saber qué medicamentos ha tomado usted en los últimos 2 meses, aunque sólo lo haya tomado 1 día, se lo haya recetado el médico o lo haya tomado por su cuenta, cualquier cosa, incluso pomadas, supositorios, jarabes,...

¿Qué fármacos ha tomado durante estos últimos dos meses?

Además de lo que me ha dicho ¿ha tomado algún medicamento durante estos dos últimos meses para alguna de estas molestias?

17. Gripe
18. Catarro
19. Fiebre
20. Tristeza
21. Nerviosismo/ansiedad
22. Problemas para dormir
23. Para estar bien
24. Luto reciente
25. Dolor de cabeza
26. Dolor de espalda
27. Dolor menstrual
28. Dolor de muelas
29. Hemorroides
30. Oído
31. Profilaxis gastritis
32. Otros dolores
33. Otros

Antes me ha dicho que había tenido (repreguntar sobre los antecedentes patológicos). ¿Ha tomado para este problema algún medicamento en los últimos 2 meses?

- | | |
|----------------------------|------------------|
| 1. Enfermedad del corazón | 9. Depresión |
| 2. Enfermedad de la sangre | 10. Migraña |
| 3. Enfermedad renal | 11. Artrosis |
| 4. Enfermedad respiratoria | 12. Artritis |
| 5. Enfermedad del hígado | 13. Osteoporosis |
| 6. Hipertensión arterial | 14. Otras |
| 7. Colesterol elevado | 15. Otras |
| 8. Diabetes | 16. Otras |

Ahora me gustaría que se mirara estas fotos de medicamentos y me dijera si en Este periodo de tiempo ha tomado alguno, aunque sólo lo haya tomado un día.

2

Código cuestionario

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

| Motivo de exclusión | |
|--|--------------------------|
| <18 años | <input type="checkbox"/> |
| Diagnóstico endoscópico excluible | <input type="checkbox"/> |
| Antecedentes patológicos | <input type="checkbox"/> |
| HDA intrahospitalarias | <input type="checkbox"/> |
| HDA sin diagnóstico de endoscopia o quirúrgico desde el ingreso hasta el alta. | <input type="checkbox"/> |
| Portadores de SNG o percutánea | <input type="checkbox"/> |
| Residencia en el área de estudio inferior a 3 meses | <input type="checkbox"/> |
| Otras: _____ | <input type="checkbox"/> |

Pegatina al
ingreso

Código
cuestionario

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

Polimorfismos genéticos y respuesta
idiosincrásica a fármacos: Un estudio
multicéntrico sobre el riesgo de
hemorragias gastrointestinales.

Casos: exclusiones secundarias

| Datos generales del paciente | | | | |
|---------------------------------------|--|--------------------------------|---|-------------------------|
| Nombre y apellidos* | | | | |
| Fecha de nacimiento | <input type="text"/> | de | <input type="text"/> | de <input type="text"/> |
| Edad | <input type="text"/> | | | |
| Sexo | <input type="checkbox"/> hombre | <input type="checkbox"/> mujer | | |
| Talla | ____, ____ m | | | |
| Peso | ____ Kg | | | |
| Dirección*(Municipio) | _____ | | Tiempo <input type="checkbox"/> > o =3meses <input type="checkbox"/> <3meses | |
| Teléfono* | | | | |
| Profesión | | | | |
| Nº historia* | | | | |
| Fecha ingreso/referencia | <input type="text"/> | de | <input type="text"/> | de <input type="text"/> |
| Fecha de entrevista | <input type="text"/> | de | <input type="text"/> | de <input type="text"/> |
| Etnia (se codificará a posteriori) | Caucasoide Negroide Mongoloide Dudoso | <input type="text"/> | Propia | Padre |
| | | País de origen | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| | | Lengua nativa | <input type="text"/> | <input type="text"/> |
| Estudios | <input type="text"/> | | | |

* Información confidencial. No incluir en la base de datos

¿Cuándo fue la última vez que acudió a un centro asistencial (urgencias, hospital de día) o ingresó en un hospital?

| | | | | |
|---------------------------------|----------------------|----|----------------------|-------------------------|
| Fecha de ingreso | <input type="text"/> | de | <input type="text"/> | de <input type="text"/> |
| Fecha de alta | <input type="text"/> | de | <input type="text"/> | de <input type="text"/> |
| Centro | | | | |
| Motivo ingreso/preoperatorio | | | | |

Código cuestionario

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

| Parámetros Clínicos (en el momento del ingreso/preoperatorio) | | | |
|---|--|-----------------|--|
| Nº concentrados hematíes | | Urea plasmática | |
| Albúmina | | | |
| Tiempo Quick | | | |
| Creatinina plasmática | | | |

| Informe de endoscopia | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------|--|--|--|--|--|--|--|----------------------------|--|----------------------------|--|---|--|--|
| Fecha de la endoscopia | | | | | | | | <div></div> <div></div> q6 | | <div></div> <div></div> q6 | | <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |

Alta ☐ Muerte ☐ Fecha

| | |
|--|--|
| | |
|--|--|

 qe

| | |
|--|--|
| | |
|--|--|

 qe

| | | | |
|--|--|--|--|
| | | | |
|--|--|--|--|

| Diagnósticos al alta (ICD10) (sólo casos) | | | |
|---|--|---|--|
| 1 | | 5 | |
| 2 | | 6 | |
| 3 | | 7 | |
| 4 | | 8 | |

| Códigos de las muestras biológicas | | | |
|------------------------------------|--------|--------------------|---|
| | Código | Resultado H.pylori | Fecha de extracción |
| Sangre | | | <div><div></div><div></div></div> de <div><div></div><div></div></div> de <div><div></div><div></div><div></div><div></div></div> |
| Suero/plasma | | | |

Código
cuestionario

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

| Motivo exclusión secundaria | |
|---|--------------------------|
| Rehusa firmar el consentimiento informado | <input type="checkbox"/> |
| Ocurrido en fin de semana o en periodos cortos de vacaciones dados de alta | <input type="checkbox"/> |
| Exitus antes de entrevistarlos | <input type="checkbox"/> |
| Endoscopia realizada posteriormente a las 48 h del ingreso | <input type="checkbox"/> |
| Alta de un hospital o hayan acudido a un centro asistencial durante los 15 días antes del ingreso | <input type="checkbox"/> |
| Estado grave | <input type="checkbox"/> |
| Alteraciones psíquicas (demencia, desorientación....) | <input type="checkbox"/> |
| Analfabetos | <input type="checkbox"/> |
| Ciegos, sordos | <input type="checkbox"/> |
| Vive en una residencia o institución cerrada y no conozca los fármacos que toma | <input type="checkbox"/> |
| Rehusa contestar la entrevista o no la realiza completamente | <input type="checkbox"/> |
| No ha sido posible la entrevista dentro de los primeros 15 días desde el ingreso | <input type="checkbox"/> |
| Otras: _____ | <input type="checkbox"/> |

Pegatina al
ingreso

Código
cuestionario

Polimorfismos genéticos y respuesta
idiosincrásica a fármacos: Un estudio
multicéntrico sobre el riesgo de
hemorragias gastrointestinales.

Control: exclusiones primarias y secundarias

| Datos generales del paciente | |
|------------------------------|---|
| Nombre y apellidos* | |
| Fecha de nacimiento | |
| Edad | <input type="text"/> <input type="text"/> de <input type="text"/> <input type="text"/> de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Sexo | <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Nº historia* | <input type="checkbox"/> hombre <input type="checkbox"/> mujer |
| Fecha referencia | <input type="text"/> <input type="text"/> de <input type="text"/> <input type="text"/> de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Fecha de exclusión | <input type="text"/> <input type="text"/> de <input type="text"/> <input type="text"/> de <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| Motivo del preoperatorio | |

* Información confidencial. No incluir en la base de datos

Código
cuestionario

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

| Motivo de exclusión | |
|--|--------------------------|
| Rehusa firmar el consentimiento informado | <input type="checkbox"/> |
| <18 años | <input type="checkbox"/> |
| Antecedentes patológicos | <input type="checkbox"/> |
| Portadores de SNG o percutánea | <input type="checkbox"/> |
| Residencia en el área de estudio inferior a 3 meses | <input type="checkbox"/> |
| Exitus antes de entrevistarlos | <input type="checkbox"/> |
| Estado grave | <input type="checkbox"/> |
| Alteraciones psíquicas (demencia, desorientación....) | <input type="checkbox"/> |
| Analfabetos | <input type="checkbox"/> |
| Ciegos, sordos | <input type="checkbox"/> |
| Vive en una residencia o institución cerrada y no conozca los fármacos que toma | <input type="checkbox"/> |
| Rehusa contestar la entrevista o no la realiza completamente | <input type="checkbox"/> |
| No ha sido posible la entrevista dentro de los primeros 15 días desde el ingreso | <input type="checkbox"/> |
| Otras: _____ | <input type="checkbox"/> |

Si tiene dos criterios de exclusión (uno primario y otro secundario) prima el primario sobre el secundario.

Resumen/Summary

Resumen

Las reacciones adversas a medicamentos (RAM) son un problema importante para la Salud Pública. Las hemorragias gastrointestinales (HGI) son una de las RAM más frecuentes que suponen una disminución notable de calidad de vida de los pacientes, además de un gran gasto económico para los sistemas sanitarios. Los AINE son uno de los principales factores de riesgo de HGI y asimismo, la aparición y gravedad de las hemorragias por AINE están sujetas a una elevada variabilidad interindividual.

Una de las principales causas de esta variabilidad es la presencia de polimorfismos en los genes que sintetizan las enzimas implicadas en el metabolismo farmacológico. La presencia de estas variantes genéticas puede alterar la actividad enzimática y, por lo tanto, también el efecto farmacológico, ya sea disminuyendo la eficacia terapéutica o incrementando el riesgo de aparición de reacciones adversas. Se ha descrito que el papel que juega la genética en la respuesta idiosincrásica puede oscilar entre un 20 y 95%.

Las enzimas responsables de la metabolización farmacológica, podrían tener una mayor implicación en la variabilidad interindividual en cuanto a la aparición de RAM, ya que, en líneas generales, este es el proceso que da lugar a la eliminación de los medicamentos. La metabolización se produce en dos fases: en la Fase I tiene lugar la inactivación farmacológica mediante reacciones de oxidación, llevadas a cabo por enzimas pertenecientes al citocromo P-450. La fase II se lleva a cabo por las glucuronosiltransferasas (UGT), una batería de enzimas encargadas añadir grupos glucurónidos a los fármacos inactivados, lo que incrementa la solubilidad de la molécula, favoreciendo así su eliminación.

En un principio, los estudios farmacogenéticos se centraron en el estudio de las enzimas del citocromo P-450, ya que alrededor del 86% de los medicamentos más prescritos en práctica clínica, son metabolizados por enzimas de este citocromo, que además, son altamente polimórficas. Una de las más relevantes es la enzima CYP2C9, ya que representa el 20% de todo el contenido CYP del hígado y se encarga de la metabolización de fármacos como los anticoagulantes y los antidiabéticos orales o los AINE. Hasta la fecha se han descrito más de 30 SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms* - Variantes en una sola base) en el gen que codifica esta enzima, sin embargo solamente dos, *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*, son frecuentes en población de origen europeo y a su vez podrían afectara la actividad enzimática de CYP2C9, ya que se localizan en la zona codificante del gen.

En estudios *in vitro* se ha determinado que la presencia de la variante *CYP2C9*2* en el gen que codifica la enzima CYP2C9, da lugar a la síntesis de una enzima con una disminución de su actividad de un 88%. La disminución de la actividad enzimática en presencia de la variante *CYP2C9*3* se calcula del 95%. Estudios farmacogenéticos llevados a cabo con la warfarina, la fenitoína, o la fenprocumona, sustratos de la enzima CYP2C9, han determinado que se produce un incremento en el riesgo de sufrir HGI en los sujetos portadores de la variante *CYP2C9*3*. Sin embargo, los artículos publicados con el fin de establecer la asociación entre AINE e incremento de riesgo de HGI en los individuos portadores de estas variantes, obtienen unos resultados muy heterogéneos que no hacen posible llegar a una conclusión plausible (tres artículos no establecen riesgo alguno, dos lo asocian a la presencia de la variante *CYP2C9*3* y otro a la presencia conjunta de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C8*3*). En la revisión sistemática y crítica se pone de manifiesto que la obtención de estos resultados se debe a limitaciones

metodológicas que dan lugar a un bajo nivel de evidencia. Las limitaciones más relevantes se relacionan con el diseño de los estudios, el tamaño de la muestra, la cuantificación de los AINE y el análisis estadístico.

Para establecer el riesgo de HGI por consumo de AINE en los sujetos portadores de las variantes *CYP2C9*2* y/o *CYP2C9*3*, se llevó a cabo un estudio multicéntrico de casos y controles completo con población del suroeste de Europa. Los hospitales participantes fueron cuatro del norte de España (Santiago de Compostela, Valladolid, Galdakao y Barcelona) y uno del norte de Italia (Verona). Se consideraron casos a todos los sujetos con diagnóstico principal de perforación ulcerosa ó hemorragia intestinal alta, diagnosticado por endoscopia o mediante intervención quirúrgica. Los controles fueron pacientes reclutados de las unidades de preoperatorio que iban a ser sometidos a cirugías banales de procesos clínicos no dolorosos. La recolección de los datos se llevó a cabo por entrevista y cuestionario realizado por personal biosanitario entrenado para tal fin, y la determinación de *H. pylori* y de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* se realizó previa recolección y preparado de las muestras de sangre. Para todo se pidió la firma del consentimiento informado a cada participante.

Entraron a formar parte del estudio 581 casos y 1358 controles, lo que supone un tamaño de la muestra muy superior al de los estudios previos. Se consideraron todos los AINE que se metabolizados como mínimo en un 50% por la enzima CYP2C9. La dosis de AINE se cuantificó en dosis diarias definidas (DDD) ya que es necesario tener en cuenta el efecto de la dosis debido a la naturaleza dosis-dependiente de esta RAM (a mayor dosis de AINE, mayor riesgo de RAM).

El análisis de los controles confirmó que la muestra es representativa de la población estudiada, ya que las dos variantes cumplen el equilibrio de Hardy-Weinberg, y que las frecuencias son consistentes con las calculadas en otros estudios en población europea: 15,3% para la variante *CYP2C9*2* y 7,35% para la variante *CYP2C9*3*.

La valoración del riesgo se realizó con modelos lineales mixtos. Las covariables que entraron a formar parte de los modelos multivariantes (antecedentes personales de enfermedad gastrointestinal, *Helicobacter pylori* positivo, artrosis, número de entrevistas realizadas al paciente, fiabilidad de la entrevista, exposición a inhibidores de la bomba de protones, antiagregantes,

anticoagulantes y AINE no metabolizados por CYP2C9) se determinaron con un análisis bivariable previo.

Los resultados de estos análisis indican que si no se tiene en cuenta la dosis de AINE, no es posible detectar la diferencia en el riesgo de HGI entre individuos sin mutaciones [OR=5,51 (3,03-10,03)] y portadores de alguna mutación [OR=6,06 (3,14-11,70)]. Sin embargo, si se considera el efecto de la dosis, a partir de dosis bajas (DDD=0,25) ya se le atribuye el doble de riesgo a los sujetos portadores de alguna mutación en sus genotipos [OR=12,84(5,69-28,99)] que a los no portadores [OR=6,57(3,35-12,95)].

Nuestra intención inicial era calcular el riesgo de HGI para cada genotipo, sin embargo, el tamaño de la muestra no era lo suficientemente elevado, por lo que se llevó a cabo un análisis por alelos, donde se halló que la variante *CYP2C9*2* y la salvaje tienen un OR muy similar 7,12(2,34-21,73) y 6,87(4,02-11,72), respectivamente y a su vez muy inferior al riesgo calculado para la variante *CYP2C9*3* [OR= 19.85 (7.42-53.07)]. Este hecho nos permitió agrupar a los sujetos en portadores de genotipos con la variante *CYP2C9*3* y no portadores. El riesgo de HGI calculado para los portadores de la variante *CYP2C9*3* a partir de 0,25 DDD es más del doble [18.89 (5.79-61.64)] que el de los individuos que no la portan [OR=7.05 (3.95-12.58)].

El dato más relevante de este trabajo es el hallazgo de una predisposición genética asociada a la presencia de la variante *CYP2C9*3*, que incrementa considerablemente el riesgo de sufrir HGI en los sujetos que consumen AINE a partir de dosis bajas. Este hallazgo es clínicamente relevante ya que el 14% de la población de origen europeo porta genotipos con esta variante, y los AINE son uno de los grupos terapéuticos más utilizados en todo el mundo.

Summary

Adverse drug reactions (ADRs) are a major problem for Public Health. Gastrointestinal haemorrhages (GIHs) are one of the most frequent ADRs that decrease the quality of life of patients and increase costs to healthcare systems. Non steroidal ant-inflammatory drugs (NSAIDs) are one of the main risk factors for suffering GIH, and the occurrence and severity of bleeding by NSAID consumption is associated to interindividual variability.

One of the main causes of variability is the presence of polymorphisms in genes that code for enzymes involved in drug metabolism. The presence of genetic variants could alter the enzymatic activity and so the pharmacological effect, either by decreasing the therapeutic efficacy or increasing the risk of ADRs. It has been described that the role of genetics in interindividual variability may range between 20 and 95%.

The enzymes responsible for drug metabolism, could have a role in interindividual variability in regard to the appearance of ADRs, because this

process results in the elimination of the drugs. Metabolism has two main phases: Phase I consist on the pharmacological inactivation by oxidation reactions. It is carried out by enzymes belonging to the cytochrome P-450. Phase II is performed by UDP-glucuronyltransferase (UGTs) enzymes, responsible for adding glucuronide groups to increase the solubility of the inactivated to the drug to promote their elimination.

Initially, pharmacogenetic studies were focused on the enzymes of the cytochrome P-450, because about 86% of the drugs most prescribed in clinical practice are metabolized by the enzymes of this cytochrome. In addition, these enzymes are highly polymorphic. The CYP2C9 enzyme account for 20% of all liver CYP content and it is responsible for the metabolism of drugs important clinically such as oral anticoagulants and oral hypoglycemic drugs or NSAIDs. To date, it have been described more than 30 SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) in the gene encoding this enzyme, but only two of them, *CYP2C9*2* and *CYP2C9*3*, are frequent in European population and are located in the coding region of the gene, so them could affect to the CYP2C9 activity.

In vitro studies have been determined that the presence of the *CYP2C9*2* variant leads to the synthesis of a CYP2C9 enzyme with a decrease in its activity of about the 88% and the variant *CYP2C9*3* decreases the enzymatic activity in a 95%. Pharmacogenetic studies conducted with CYP2C9 substrates like warfarin, phenytoin, or phenprocoumon, have determined an increase in the risk of HGI in subjects carrying the variant *CYP2C9*3*. However, the articles that have been published with the objective to establish the association between NSAIDs and risk of GIH in individuals carriers of these variants, have obtained so heterogeneous results that they do not make possible to reach plausible conclusions (three articles do not provide risk, two asses the GIH risk to the presence of *CYP2C9*3* and the last one, establish that the risk of GIH is higher in individuals carrying both *CYP2C9*2* and *CYP2C8*3* variants). In our systematic and critical review it is shown that these results are due to methodological limitations decrease the level of evidence of the articles. The most important limitations are related to the study design, the sample size, the quantification of the NSAIDs dosage, and the statistical analysis.

To establish the risk of GIH for NSAID exposure in subjects carrying the *CYP2C9*2* and/or *CYP2C9*3* variants, a multicenter case-control study was conducted with population of the southwestern of Europe. Participants were

recruited from four hospitals in northern Spain (Santiago de Compostela, Valladolid, and Barcelona Galdakao) and one in northern Italy (Verona). Patients with diagnosis of perforated ulcer or high intestinal bleeding diagnosed by endoscopy or by surgical intervention, were defined as *cases*. *Controls* were defined as the patients recruited from preoperative units to undergo surgery of painless processes. Data were collected by interview and questionnaire throughout trained biomedical staff. Blood samples were collected to determine *CYP2C9* genotypes and *H. pylori* infection. All participants signed the informed consent.

581 cases and 1358 controls became part of the study. The sample size recruited was much higher than the selected in previous studies. The NSAIDs considered must be metabolized by at least in a 50% by the *CYP2C9* enzyme. The dosage of NSAIDs was measured in daily doses defined (DDDs) because it is necessary to take into account the effect of the dose, due to the dose-dependent nature of the GIH caused by NSAIDs.

The analysis performed in the control group confirmed that our sample is representative of the population studied, because both *CYP2C9**2 and *CYP2C9**3 variants fulfil the Hardy-Weinberg equilibrium. The frequencies of the variants are consistent with the data obtained in other studies performed in European populations: 15,3% for *CYP2C9**2 variant and 7,35% for *CYP2C9**3 variant.

The analysis of the risk of suffering GIHs was carried out with mixed generalised linear models. Using a bivariate analysis we identified the candidate covariates to perform the multivariate model. Finally, the variables included in the models were: personal history of gastrointestinal disorders, presence of *Helicobacter pylori*, arthrosis, amount of interviews conducted with patient, reliability of the interview, patients exposed to PPIs, anti-platelets, anticoagulants and/or NSAIDs not metabolised by *CYP2C9* enzyme.

The results of the analysis show that do not take into account the NSAID dosage, render it impossible to detect differences between the risk of GIH among patients without mutations [OR= 5.51 (3.03 to 10.03)] and with mutations [OR= 6.06 (3.14 to 11.70)]. However, considering the effect of the dose it was found that subjects carrying some of the variants in their genotypes [OR= 12.84 (5.69 to 28.99)] have double risk of GIH than non-carriers [OR= 6.57 (3.35 to 12.95)], from low doses of NSAID (DDD= 0.25).

Initially, our intention was to establish the risk of GIH for each genotype, but the sample size was not high enough, so an analysis by alleles was conducted, and it was found that the *CYP2C9*2* and the wild variant have a very similar risk of GIH [OR= 7.12 (2.34 to 21.73) and 6.87 (4.02 to 11.72), respectively]] and at the same time this risk is much lower than the calculated for the *CYP2C9*3* variant [OR= 19.85 (7.42 to 53.07)]. This allowed us to group the subjects into carrying or not carrying the *CYP2C9*3* variant in their genotypes. The results show that from 0.25 DDD of NSAID, the risk of GIH in carriers of the *CYP2C9*3* variant is more than the double [OR= 18.89 (5.79 to 61.64)] than the risk found for individuals without the *CYP2C9*3* variant [OR= 7.05 (3.95 to 12.58)].

The most important finding of this work is concerned to the existence of a genetic predisposition associated with the presence of the *CYP2C9*3* variant, which increases significantly the risk of GIH in individuals who consumed NSAIDs from low doses. This finding is clinically relevant because the 14% of the european population carry this variant in their genotypes, and NSAIDs are one of the therapeutic groups most used worldwide.

